**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**

**Mémoire**

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

**Spécialité :** Microbiologie Appliquée

**Par :**

**Balaouane Nesrine** **Touzout Fedoua**

**Thème :**

# Impact de la contamination par des polluants émergents sur la microalgue Spiruline (*Arthrospira platensis*)

Soutenue publiquement le : 2 8 / 0 6 / 2 0 2 5 . Devant le jury composé de :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dr. Ainas Mahfoud | MCA | U. Médéa | Président |
| Dr. Bouchibane Malika | MCB | U. Médéa | Examinatrice |
| Dr. Touzout Nabil | MCB | U. Médéa | Encadreur |

**Année universitaire 2024/2025**

# *Remerciements*

Avant toute chose, nous adressons notre profonde gratitude à Dieu le Tout-Puissant, dont le soutien spirituel nous a accompagnés tout au long de ce travail. C'est grâce à Lui que nous avons pu faire preuve de persévérance, surmonter les difficultés rencontrées, et mener à bien cette recherche. Il nous a donné la force, la patience et la volonté durant toutes ces longues années d'études pour achever ce modeste travail.

Nous adressons, en tout premier lieu, nos remerciements les plus sincères au Dr. TOUZOUT Nabil notre encadrant, pour son accompagnement attentif, la pertinence de ses conseils et sa disponibilité constante. Son expertise ainsi que sa bienveillance ont largement contribué à l'enrichissement de cette recherche.

En fin, Nous adressons nos sincères remerciements aux membres du jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer et de juger notre travail. Leur expertise et leurs remarques constructives ont grandement contribué à la qualité de ce projet.

# *Dédicace*

Au terme de ce parcours riche en défis et en enseignements, je ressens le besoin de marquer une pause… une pause pour regarder en arrière, mesurer le chemin parcouru, et surtout, exprimer ma profonde reconnaissance.

À travers les doutes, les efforts, et les instants de découragement, certaines présences ont été des phares dans la nuit, des ancrages silencieux, des sources de courage inestimables. C'est à vous, compagnons discrets ou guides bienveillants, que je souhaite aujourd'hui adresser cette dédicace.
Avec tout le respect qui vous est dû, et avec toute ma reconnaissance, je dédie ma réussite, mon diplôme et la joie qui l'accompagne :

À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma vie et de mon bonheur, à ma lune, à ce fil d'espoir qui a éclairé mon chemin : **ma moitié, ma maman**.

À celui qui m'a appris à être forte, digne et courageuse, à ma source d'amour et d'affection, à mon soutien inébranlable, **mon prince, mon papa**.
Leur confiance a été ma boussole tout au long de ce parcours. Sans eux, je n'aurais jamais tenu.

**À mes chères sœurs**, compagnes de cœur, éclats de rire dans la tourmente, piliers dans l'ombre… Votre amour est mon refuge.

**À mon petit frère**, pour ses câlins, ses sourires sincères et sa manière unique d'alléger mes journées. Merci d'être ce rayon de soleil dans ma vie.

**À ma famille et mes amies proches**, qui m'ont écoutée, soutenue, encouragée, remonté le moral, et fait rire lorsque j'en avais le plus besoin. Votre présence a tout changé. Vous avez ravivé la flamme quand elle menaçait de s'éteindre.

**À ma chère binôme,** Fedoua avec qui j'ai partagé cette aventure scientifique.

Je n'oublie pas non plus toutes les personnes croisées sur ce chemin : celles qui m'ont offert un regard bienveillant, un mot juste, ou une aide inattendue… Celles qui ont cru en moi, m'ont portée par leur confiance, leur soutien et leurs encouragements. Leur générosité a laissé une empreinte durable dans mon cœur.

*Nesrine*

# *Dédicaces*

Je dédie ce travail

A l'être les plus chers de ma vie, **ma mère** et **mon père**.

Ce travail est un hommage à votre amour, vos conseils et votre présence constante. Vos encouragements et sacrifices ont été les fondations de mon parcours. Merci d'avoir toujours cru en moi. Je n'aurais jamais pu accomplir tout cela sans votre soutien. Je garderai à jamais en mémoire tout ce que vous m'avez transmis. Vous êtes la source de ma force et la raison de mon succès.

A **mes chères sœurs** ; les lumières de mes jours, Sarah et Dounia qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

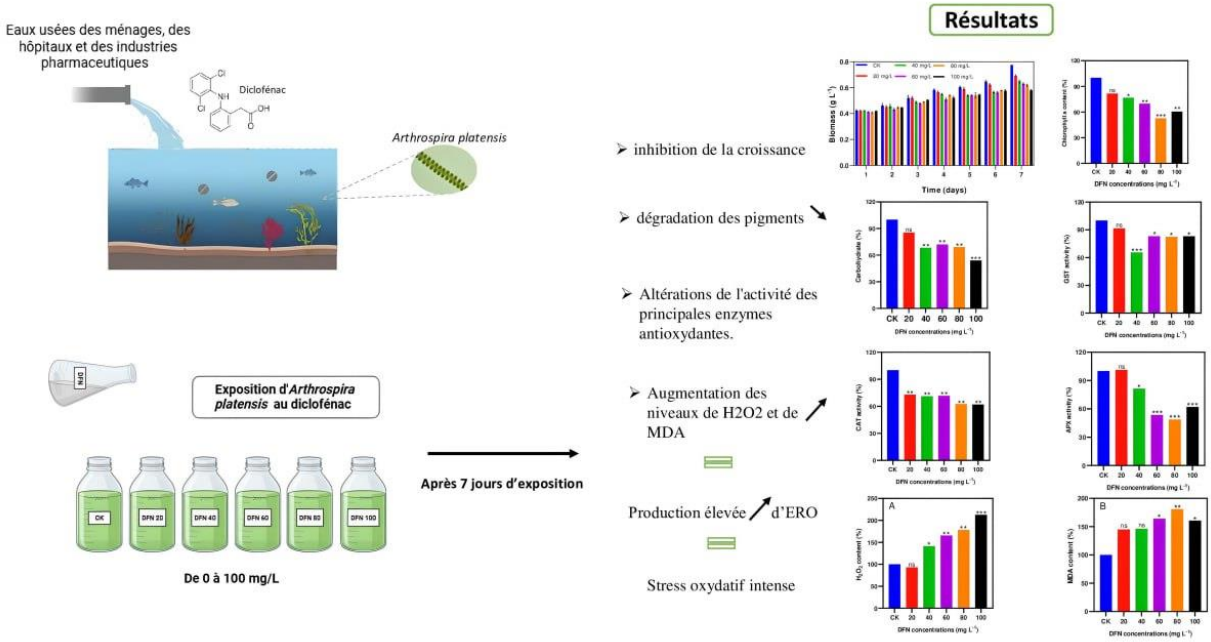
A toutes **mes amis** et **ma famille** qui ont été une source de soutien et d'encouragement, chacun par son nom pour que je n'oublie personne.

A **ma binôme,** Nesrine qui m'a accompagnée tout au long de ce travail.

A toutes les personnes qui m'aiment sincèrement et qui souhaitent me voir réussir.

*Fedoua*

# Résumé graphique



**الملخص**

إن التزايد المستمر في وجود الملوّثات الدوائية، مثل الديكلوفيناك، في البيئات المائية يُشكل خطراً بيئياً كبيراً. ومع ذلك، فإن سميّتها تجاه الطحالب الدقيقة لا تزال غير مفهومة بشكل كافٍ. تناولت هذه الدراسة تأثير الديكلوفيناك (بتركيزات من 0 إلى 100 ملغ/لتر) على السيانوبكتيريا العذبة السبيرولينا لمدة 7 أيام. وقد أظهرت النتائج أن تكوّن الكتلة الحيوية كان مثبطًا بشكل متزايد تبعًا للوقت والتركيز، مع تسجيل أقوى تأثير عند أعلى جرعة (100 ملغ/لتر). تسبب التعرض للديكلوفيناك في حدوث إجهاد تأكسدي، حيث ارتفعت مستويات بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$) والمالون دي ألدهيد (MDA). بالإضافة إلى ذلك، لوحظ انخفاض كبير في نشاط إنزيمات مضادات الأكسدة والتخلص من السموم، وهي: الكاتالاز (CAT)، وأسكوربات بيروكسيداز (APX)، وبيروكسيداز (POD)، وإنزيم غلوتاثيون إس-ترانسفيراز (GST). كما تأثر تركيب الأصباغ بانخفاض محتوى الكلوروفيل a بنسبة 39٪، إلى جانب انخفاض ملحوظ في محتوى الدهون والكربوهيدرات. تسلط هذه النتائج الضوء على الخطر السمي البيئي للديكلوفيناك على الحياة المائية، وتؤكد على ضرورة إجراء أبحاث لفهم الأسس الجزيئية لهذه الاستجابات. وتساهم هذه الدراسة في تعزيز الفهم لتأثير التلوث الدوائي على البيئة، وتعدّ أساسًا لتقييمات مستقبلية للمخاطر البيئية.

**الكلمات المفتاحية:** السبيرولينا، المعالجة الحيوية، ديكلوفيناك، الخطر الإيكوتوكسيلوجي، الملوثات الناشئة

## Résumé

La présence croissante de polluants pharmaceutiques, tels que le diclofénac (DFN), dans les milieux aquatiques représente un risque écologique important. Cependant, leur toxicité envers les microalgues reste encore mal comprise. Cette étude a examiné l'influence du DFN (0 à 100 mg. $L^{-1}$) sur la cyanobactérie d'eau douce *Arthrospira platensis* pendant 7 jours. Les résultats ont révélé que la formation de biomasse était de plus en plus inhibée de manière dépendante du temps et de la dose, avec un effet maximal observé à la dose la plus élevée (100 mg. $L^{-1}$). L'exposition au DFN a induit un stress oxydatif, avec une augmentation des niveaux de peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) et de malondialdéhyde (MDA). De plus, une diminution considérable de l'activité des enzymes antioxydantes et de détoxification a été observée, notamment la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APX), la peroxydase (POD) et la glutathion S-transférase (GST). La composition en pigments a été affectée, avec une diminution de 39 % de la teneur en chlorophylle a, ainsi qu'une réduction notable des teneurs en lipides et en glucides. Ces résultats soulignent le danger écotoxicologiques du DFN pour la vie aquatique et confirment la nécessité de recherches sur les bases moléculaires de ces réponses. Ce travail contribue à une meilleure compréhension de l'impact environnemental de la pollution pharmaceutique et constitue une base pour de futures évaluations du risque écotoxicologiques.

***Mots-clés*** : *Arthrospira platensis*, bioremédiation, diclofénac, risque écotoxicologiques, polluants émergents

## Abstract

The increasing presence of pharmaceutical pollutants, such as diclofenac (DFN), in aquatic environments poses significant ecological risks. However, their toxicity to microalgae remains poorly understood. The study examined the influence of DFN (0-100 mg. $L^{-1}$) on the freshwater cyanobacterium *Arthrospira platensis* for 7 days. The outcome revealed that biomass formation was increasingly suppressed in a time and dose dependent manner with maximum effects observed at higher doses (100 mg. $L^{-1}$). DFN exposure caused oxidative stress, with enhanced levels of hydrogen peroxide (ER) and malondialdehyde (MDA) levels. Besides, there was a considerable reduction in the level of antioxydant and detoxification enzyme activities, namely catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POD) and glutathion S-transferase (GST). composition of pigments was affected by a 39% decrease in chlorophyll a content as well as conspicuous reduction in lipids and carbohydrate content. These results highlight the ecotoxicological hazard of DFN to aquatic life and affirm the necessity of research on the molecular basis for these responses. This work adds to improved comprehension of pharmaceutical pollution's environmental impact and serves a basis for future ecotoxicological risk assessment.

***Keywords*****:** *Arthrospira platensis*, bioremediation, diclofenac, Ecotoxicological risk, Emerging contaminants

# Liste des figures

**Figure 1** : Cyanobacteria : (A) Plectonema (B) Synechocysis (C) Microcystis (D) Planktothrix (E) Anabaena (F) Merismopedia.....4
**Figure 2** : Une comparaison des enveloppes cellulaires des bactéries Gram-négatives générales et des cyanobactéries. .....4
**Figure 3** : Morphologie de la spiruline. A : Image obtenue par microscopie électronique à balayage. B : Image obtenue par microscopie optique. .....9
**Figure 4** : Les différents aspects de la spiruline. .....9
**Figure 5** : Un aperçu schématique de la production de biocarburants à base de cyanobactéries (les cyanobactéries absorbent de $CO_2$, le transforment en produits organiques et libèrent de l'oxygène. Ces produits sont ensuite convertis en biocarburants par des enzymes). .....14
**Figure 6** : Source des résidus d'antibiotiques dans l'environnement.....15
**Figure 7** : Source des polluants environnementaux et leur impact sur la santé. Sources : (1) Logements ruraux et urbains, industries, effluents d'usines, gaz d'échappement des véhicules ; (2) Pollution des sols dans les décharges ; (3) Déchets agricoles ; (4) Pollution des plages due aux activités anthropiques ; Affecte : (5) Pollution de l'eau, affectant la vie aquatique ; (6) Les humains, la flore et la faune sont affectés ; (7) Cycles biogéochimiques ; (8) Accumulation de toxines dans la chaîne alimentaire ; (9) Dommages à la santé et au bien-être en général. .....17
**Figure 8** : Principe de fonctionnement de la SPME.....19
**Figure 9** : Procédure schématique de la technique de microextraction liquide-liquide dispersive. .....19
**Figure 10** : Flux de travail des méthodes instrumentales courantes pour la détection des antibiotiques. .....22
**Figure 11** : Représentation schématique de (a) un dispositif de biocapteur générique montrant un échantillon contenant la cible interagissant avec le biocapteur. Après la reconnaissance, le transducteur est responsable de générer un signal. .....24
**Figure 12** : Principales voies de contamination des sols et des eaux par les antibiotiques, les bactéries résistantes aux antibiotiques et les gènes de résistance aux antibiotiques. .....24
**Figure 13** : Source de pollution par les antibiotiques et ses implications dans l'environnement aquatique. (A) les antibiotiques affectent les organismes non ciblés, (B) développement de gènes de résistance aux antibiotiques (ARGs), (C) les microalgues transforment les antibiotiques en composés non dangereux. .....25
**Figure 14 :** La formule chimique du Diclofenac. .....26
**Figure 15** : Les microalgues marines comme centre de la perspective déchet-à-valeur et de l'économie circulaire. .....32
**Figure 16** : Le schéma pictural de la bioaugmentation. .....34
**Figure 17** : Le schéma pictural de la biostimulation. .....35
**Figure 18** : schéma général de processus de biosorption .....36
**Figure 19** : Organisation expérimentale de l'étude .....40
**Figure 20** : Effet de différentes concentrations de diclofenac sur la morphologie d'*Arthrospira platensis* après 7 jours d'exposition (A) Témoin, (B) 40 mg. $L^{-1}$ de DFN, (C) 60 mg. $L^{-1}$, (D) 80 mg. $L^{-1}$, (E) 100 mg. $L^{-1}$. .....48
**Figure 21 :** Effet du diclofénac (DFN) sur la croissance d'*Arthrospira platensis* en termes de (a) biomasse et (b) taux d'inhibition au cours des 7 jours de culture. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$. .....50

**Figure 22** : Effet du diclofénac (DFN) sur les teneurs en (a) chlorophylle a, (b) chlorophylle b et (c) caroténoïdes chez Arthrospira platensis. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$.. ..... 51
**Figure 23** : Effet du diclofénac (DFN) sur les teneurs en (A) protéines, (B) lipides et (C) carbohydrates chez *Arthrospira platensis*. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$. ..... 52
**Figure 24**: Effet du diclofénac (DFN) sur les teneurs en (A) peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) et (B) malondialdéhyde (MDA) chez *Arthrospira platensis*. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$. ..... 52
**Figure 25**: Effet du diclofénac (DFN) sur les activités de (A) la catalase (CAT), (B) l'ascorbate peroxydase (APX), (C) la peroxydase (POD) et (D) la glutathion S-transférase (GST) chez *Arthrospira platensis*. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$. ..... 53
**Figure 26** : Carte de corrélation de Pearson des paramètres mesurés. La Cyanobactérie d'eau douce Arthrospira platensis a été exposée à différentes concentrations de diclofénac (DFN) (0_100mg. L) pendant 7 jours. Chl a (chlorophylle a) ; Chl b (chlorophylle b) ; Car (caroténoïdes) ; MDA (malondialdéhyde) ; $H_2O_2$ (peroxyde d'hydrogène) ; CAT (catalase) ; GST (glutathion-S-transférase) ; APX (ascorbate peroxydase) ; POD (peroxydase) ; protéines (Prt) ; glucides (Carb) et teneur en lipides (Lip). ..... 54
**Figure 27** : Représentation tridimensionnelles (a, c) et bidimensionnelles (b, d) de docking du diclofénac sodique avec les enzymes APX (a, b) et GPX (c, d) ..... 56
**Figure 28** : Représentations tridimensionnelles (a, c) et bidimensionnelles (b, d) de l'ancrage du diclofénac sodique avec les enzymes GST (a, b) et POD (c, d). ..... 57

# Liste des Tableaux

**Tableau 1**: les avantages et les inconvénients de bioremédiation.....31
**Tableau 2**: exemple de microalgues utilisées dans la phytoremédiation et leur polluants ciblés.....32
**Tableau 3** : Composition de milieu de culture Zerrouk.....37
**Tableau 4** : Composition de la solution A5.....38

# Liste des abréviations

*A. platensis* : *Arthrospira platensis*

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AGPI : Acides gras polyinsaturés

AINS : Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

ARNr 16S : ARN ribosomique 16S (pour l'identification des espèces bactériennes)

ATB : Antibiotiques

B9 : vitamine B9 (folate)

BCF : Facteur de Bioconcentration

BOD : Demande Biochimique en Oxygène (mesure de la pollution organique)

C : Cytosine (dans le contexte de la teneur en bases G et C de l'ADN)

C. vulgaris : Chlorella vulgaris

$CO_2$ : Dioxyde de carbone

COD : Demande Chimique en Oxygène (mesure de la pollution chimique)

C-phycocyanine : Cyanocyanine C (pigment)

DLLME : Microextraction Dispersive en Phase Liquide

DDW : eau doublement distillée « eau ultra pure »

DFN : Diclofénac

ELISA : Dosage Immuno-enzymatique

ELL : Extraction Liquide-Liquide

EPS : Exopolysaccharides

Ex situ : Traitement hors site

F : Fluor

FD : Fluorescence Détection

Fe : Fer

h : heure

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HCMV : Cytomégalovirus humain

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance

HSV-1 : Herpès Simplex Virus de type 1

HSV-2 : Herpès Simplex Virus de type 2

IL-1β : Interleukin-1 beta

IL-6 : Interleukin-6

LFIA : Test Immunologique à Flux Latéral

LPO : Peroxydation Lipidique

MDA : Malondialdéhyde

MIPs : Polymères à Empreintes Moléculaires

MOFs : Cadres Organométalliques

MS/MS : Spectrométrie de Masse en Tandem

MSPE : Extraction Solide en Phase Magnétique

IN SITU : À l'endroit d'origine

NRPs : Peptides non ribosomiques

$O_2$ : Oxygène

Pb : Plomb

PBMC : Cellules Mononucléées du Sang Périphérique

PCB : Polychlorobiphényles

PIMs : Polymères Imprimés Moléculaires

PKs : Polykétides

RiPPs : Peptides modifiés post-traductionnellement

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

RuBisCO : Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase

SAC : Sulfacétamide

SERS : Spectroscopie Raman Améliorée par Surface

SM : Spectrométrie de Masse

SMX : Sulfaméthoxazole

SPE : Extraction en Phase Solide

SPME : Microextraction en Phase Solide

Spp : Espèces

TNF-α : Facteur de Nécrose Tumorale alpha

UV-Vis : Spectroscopie Ultraviolet-Visible

VIH-1 : Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1

β-carotène : Bêta-carotène

µm : Micromètre/ml : Microgrammes par millilitre

# Table des matières

**Remerciements**

**Dédicace**

**Résumé graphique**

**الملخص**

**Résumé**

**Abstract**

**Liste des figures**

**Liste des Tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction générale**

**Synthése bibliographique**

**Chapitre 01 : Généralités sur les cyanobactéries et la spiruline**

*1* Les Cyanobactéries ..... 3

1.1 HISTORIQUE DES CYANOBACTERIES ..... 3

1.2 Les caractères des cyanobactéries ..... 3

1.3 Ecologie et Biologie des Cyanobactéries ..... 5

1.4 Organisation, fonction et comportement ..... 5

1.5 Facteurs influencent la croissance des cyanobactéries ..... 6

1.5.1 Température ..... 6

1.5.2 Lumière et flottabilité ..... 6

1.5.3 Phosphore et azote ..... 7

2 Spiruline ..... 7

2.1 Définition ..... 7

2.2 Taxonomie ..... 8

2.3 Historique sur la spiruline ..... 8

2.4 Morphologie de spiruline ..... 8

2.5 Répartition géographique ..... 10

2.6 Composition nutritionnelle de la spiruline ..... 10

3 Le genre *Arthrospira platensis* ..... 11

4 Potentiels des cyanobactéries ..... 11

4.1 Effet de la spiruline sur la santé ..... 11

4.2 Activité anti-inflammatoire ..... 11

4.3 Activité antioxydante ..... 12

4.4 Activité antimicrobienne ..... 12

4.5 Activité antivirale de la spiruline ..... 13

4.6 Activité anti-cancéreuse ..... 13
5 Ressource pour la production de biocarburants ..... 13
**Chapitre 02** : **La pollution des écosystèmes aquatiques par les polluants émergents**
1 Introduction à la pollution par les ATB ..... 15
2 Définition et l'origine des ATB dans l'environnement ..... 15
3 Source de pollution ..... 16
4 Mécanismes de contamination des écosystèmes aquatiques ..... 17
5 Techniques d'analyse et de détection des ATB dans l'eau ..... 18
5.1 Méthodes d'enrichissement et d'extraction des ATB dans l'eau ..... 18
5.1.1 Extraction en phase solide (SPE) ..... 18
5.1.2 Microextraction en phase solide (SPME) ..... 18
5.1.3 Extraction solide en phase magnétique (MSPE) ..... 19
5.1.4 Extraction Liquide-Liquide (ELL) ..... 19
5.1.5 Microextraction dispersive en phase liquide (DLLME) ..... 19
5.1.6 Polymères Imprimés Moléculaires (PIMs) ..... 20
5.2 Méthodes d'immunoanalyse ..... 20
5.2.1 Dosage immuno--enzymatique (ELISA) ..... 20
5.2.2 Test immunologique à flux latéral (LFIA) ..... 20
5.2.3 Dosage immunologique par fluorescence. ..... 21
5.3 Méthodes d'analyse instrumentale ..... 21
5.3.1 Méthode chromatographique ..... 21
5.3.2 Méthodes spectroscopiques ..... 22
5.3.3 Méthodes spectrométriques. ..... 22
5.4 Méthodes de détection des capteurs ..... 22
5.4.1 Les capteurs électrochimiques ..... 23
5.4.2 Les capteurs optiques. ..... 23
5.4.3 Biocapteurs. ..... 23
6 Effet des antibiotiques sur les écosystèmes aquatiques ..... 24
6.1 Effet sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques ..... 24
6.2 Bioaccumulation et effets à long terme sur la chaine alimentaire ..... 25
7 Le diclofénac : un contaminant pharmaceutique émergent ..... 26
7.1 Son effet sur les organismes aquatiques ..... 27
**Chapitre 03** : **La Bioremédiation**
1 Généralité ..... 28
2 Types de bioremédiation ..... 29
2.1 IN SITU ..... 30
2.2 EX SITU ..... 30

3 Les avantages et les inconvénients ..... 31
4 Rôle des microalgues dans la dépollution ..... 31
4.1 Types de Microalgues et leurs Polluants Ciblés ..... 32
4.2 Mécanisme of bioremédiation ..... 33
4.2.1 Bioaugmentation ..... 33
4.2.2 Biostimulation ..... 34
4.2.3 Biosorption ..... 35
4.2.4 Bioaccumulation ..... 36

**Partie Expérimentale**

**Chapitre 01 : Matériels et Méthodes**

1 Période et lieu de stage ..... 37
2 Milieu de culture ..... 37
3 Choix de polluant (AINS) ..... 38
4 Cyanobactéries et conditions de culture ..... 38
5 Essais écotoxicologiques ..... 39
6 Évaluation de la croissance et de la biomasse cellulaire ..... 38
7 Analyse de la morphologie cellulaire ..... 38
8 Extraction et estimation des pigments photosynthétiques ..... 38
8.1 Extraction des chlorophylle (a, b) et des caroténoïdes ..... 38
9 Analyse des paramètres biochimiques d'*A. Platensis* ..... 39
9.1 Evaluation des macromolécules biochimiques ..... 39
9.1.1 Estimation de la teneur en protéines ..... 39
9.1.2 Extraction des lipides ..... 40
9.1.3 Estimation de la teneur en carbohydrates ..... 40
10 Estimation du système de défense des antioxydants enzymatiques et contrôle du stress oxydatif ..... 41
10.1 Peroxydation lipidique (dosage du MDA) ..... 41
10.2 Dosage du peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) ..... 41
10.3 Activité de l'ascorbate peroxydase (APX) ..... 42
10.4 Estimation de l'activité peroxydase (POD) ..... 42
10.5 Estimation de l'activité de catalase (CAT) ..... 43
10.6 Analyse de Glutathionne-S-transférase (GST) ..... 43
11 Analyse statistique ..... 44
12 Études de Docking moléculaire ..... 44

**Chapitre 02 : Résultats**

1 Effet du diclofénac sur la Morphologie de spiruline ..... 48
2 Effet du diclofénac sur la croissance de *A. platesnsis* ..... 48

3 Effet du diclofénac sur les pigments photosynthétiques ..... 50
4 Effet du diclofénac sur les biocomposants primaires ..... 51
5 Effet du diclofénac sur les biomarqueurs oxydatifs ..... 52
6 Effet du diclofénac sur le system antioxydant ..... 52
7 Analyse de corrélation ..... 53
8 Docking moléculaire ..... 54

**Chapitre 03 : Discussion**

**Conclusion et Perspective**

**Références Bibliographiques**

# Introduction

# Générale

La surconsommation et l'utilisation excessive de composés pharmaceutiques, en particulier d'antibiotiques, sont devenues des préoccupations environnementales alarmantes, contribuant au problème croissant de la pollution par les antibiotiques. Jusqu'à 90 % des antibiotiques administrés sont excrétés sans être métabolisés dans les réseaux d'égouts, où les stations d'épuration municipales ne parviennent souvent pas à les éliminer. Par conséquent, ces contaminants pharmaceutiques peuvent s'infiltrer dans les sources d'eau potable, entraînant des risques de toxicité et de santé qui ont un impact sur différents niveaux trophiques tels que le phytoplancton, l'agriculture et l'aquaculture; malgré l'utilisation répandue de ces nouveaux contaminants de l'eau, des études ont montré que les antibiotiques résiduels à long terme dans l'eau perturbent la synthèse de l'ADN et des protéines chez les plantes et les animaux et favorisent l'émergence de gènes de résistance aux pathogènes bactériens dans les populations microbiennes (Bisht et al., 2025). L'utilisation excessive de ces derniers a entraîné une grave contamination des milieux aquatiques et terrestres, tant dans les eaux douces que dans les eaux marines et côtières ( Zhou et al., 2022).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), comme le diclofénac (DFN), sont fréquemment utilisés pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et antalgiques. Leur mécanisme d'action repose sur l'inhibition non sélective des cyclo-oxygénases (COX), entraînant une baisse des prostaglandines, et donc de l'inflammation, de la fièvre, et de la douleur. Cette inhibition peut aussi provoquer des effets indésirables tels que la réduction de la protection gastrique (Aouacheri et al., 2009). Le diclofénac, faiblement dosé, est souvent prescrit comme antalgique dans le traitement des douleurs aiguës. Découvert en 1973 par la société Ciba-Geigy, il est aujourd'hui largement utilisé sous différentes formes, orales ou topiques (Lonappan et al., 2016). Le diclofénac est aujourd'hui classé parmi les polluants pharmaceutiques émergents en raison de sa large utilisation et de sa détection fréquente dans les eaux usées, les rivières et même l'eau potable. Sa présence persistante et son potentiel toxique soulèvent des inquiétudes concernant ses effets sur les organismes aquatiques et les écosystèmes (aus der Beek et al., 2016).

Les microalgues, en tant qu'organismes aquatiques de faible niveau trophique, sont à la base de la chaîne alimentaire aquatique et sont le plus souvent choisies comme modèles biologiques pour les essais écotoxicologiques (Yang et al., 2020). Parmi les organismes affectés, les cyanobactéries occupent une place centrale dans les écosystèmes aquatiques en tant que producteurs primaires. Ces micro-organismes photosynthétiques contribuent à la production de biomasse et d'oxygène. Toutefois, dans certaines conditions, ils peuvent aussi

provoquer des efflorescences nuisibles. Leur sensibilité aux contaminants pharmaceutiques comme le diclofénac peut ainsi compromettre la stabilité des écosystèmes aquatiques (Zhang et al., 2022).

Les antibiotiques et les algues existent simultanément dans les environnements aquatiques, ce qui entraîne des effets complexes réciproques. En général, la croissance des algues peut être inhibée lorsqu'elles sont exposées à des antibiotiques, tandis que les algues peuvent présenter des effets d'hormèse sous le stress de très faibles concentrations, ce qui est lié au type d'antibiotiques et d'algues (Zhang et al., 2023).

Afin de résoudre ce problème, La bioremédiation a suscité un intérêt significatif en tant qu'approche efficace, financièrement viable et respectueuse de l'environnement pour la décontamination des sols et des eaux pollués. À travers le monde, diverses entités comme les algues, les champignons, les bactéries et certaines plantes sont employées dans le cadre de la biorestauration. L'utilisation de microalgues pour la bioremédiation constitue une solution plus écologique et pérenne pour divers types de réduction des déchets et de génération de biocarburants renouvelables, compte tenu de leurs propriétés exceptionnelles dans l'élimination des polluants (Mathimani et al., 2019; Mathimani & Pugazhendhi, 2019; Zada et al., 2021).

Cette étude apporte de nouvelles perspectives en examinant les effets de différentes concentrations de diclofénac (DFN) sur *A. platensis*, en mettant l'accent sur ses pigments photosynthétiques et ses activités enzymatiques antioxydantes. Elle met également en évidence les réponses adaptatives et les modifications métaboliques de cette cyanobactérie sous stress induit par le DFN, offrant ainsi une approche pratique pour atténuer les risques écologiques dans les environnements aquatiques.

# *Synthèse Bibliographique*

# Chapitre 01

# Généralités sur les cyanobactéries et la spiruline

# 1 Les Cyanobactéries

## 1.1 HISTORIQUE DES CYANOBACTERIES

Apparues il y a environ 3,5 milliards d'années durant le précambrien, les cyanobactéries Sont, avec les bactéries, les êtres vivants les plus anciens connus sur Terre. Il en existe au moins 2000 espèces réparties dans plus de 150 genres. Elles représentent une sous-classe bactérienne majeure tant par leur diversité morphologique et physiologique que par le rôle qu'elles ont joué en créant l'atmosphère aérobie nécessaire au développement de la vie. En effet, ces organismes Procaryotes partagent avec les plantes la capacité d'effectuer la photosynthèse en utilisant la lumière et l'eau pour la réduction du gaz carbonique, processus qui s'accompagne d'un dégagement d'oxygène. Encore de nos jours, les cyanobactéries jouent un rôle dans l'équilibre des proportions entre le gaz carbonique et l'oxygène (Sguera, 2018).

## 1.2 Les caractères des cyanobactéries

Les cyanobactéries ont jusqu'à récemment également été caractérisées par leur capacité à former le pigment phycobiline, la phycocyanine. C'est la haute concentration de ce pigment qui se produit dans certaines conditions qui conduit à la couleur bleuâtre des organismes et donc aux deux noms par lesquels les organismes sont communément connus, Cyanobactéries ou algues bleu-vert (Brian A.Whitton, 2001).

Les cyanobactéries présentent une diversité morphologique considérable. Ils peuvent être des unicellulaires ou des filaments et ceux-ci peuvent se présenter individuellement ou regroupés en colonies (Brian A.Whitton, 2001). Leur structure externe est constituée de trois couches distinctes, telles qu'une couche mucilagineuse, une paroi cellulaire et une membrane plasmique interne. Le cytoplasme contient des lamelles pigmentées qui ne sont pas organisées en plastes. Les pigments comprennent les chlorophylles, les carotènes, les xanthophylles, la c-phycoérythrine et la c-phycocyanine, et les deux derniers pigments se trouvent dans les algues bleu-vert (Chittora et al., 2020).

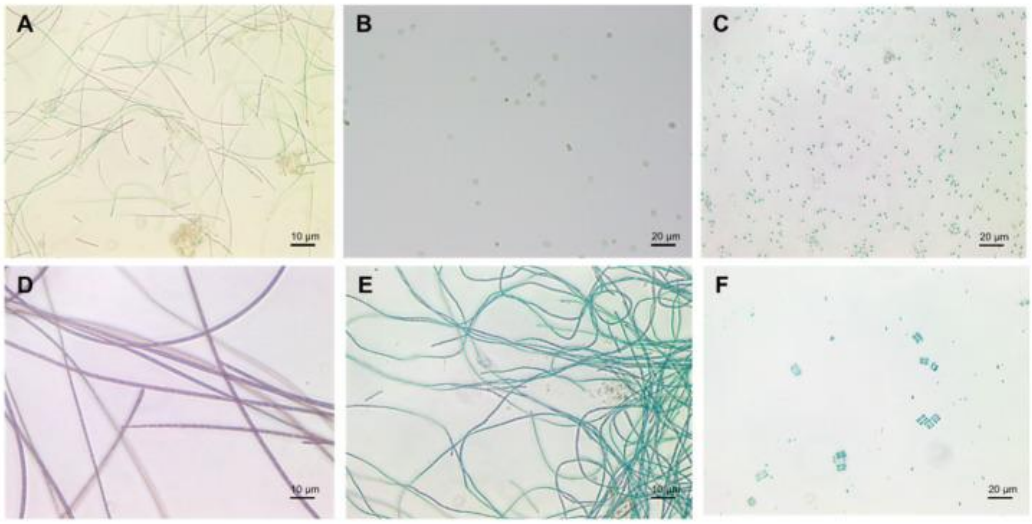



**Figure 1** : Cyanobacteria : (A) Plectonema (B) Synechocysis (C) Microcystis (D) Planktothrix (E) Anabaena (F) Merismopedia (Mehdizadeh Allaf & Peerhossaini, 2022).

Les cyanobactéries, bien que partageant des caractéristiques anatomiques avec les bactéries, se distinguent par leur capacité de flottabilité, la photosynthèse oxygénique et la fixation de l'azote, leur permettant de s'adapter à divers environnements, y compris des conditions extrêmes. En tant que producteurs primaires phototropiques, elles jouent un rôle clé dans les écosystèmes naturels ( Mishra et al., 2019). Leur paroi cellulaire, plus épaisse que celle des autres bactéries Gram-négatives, contient du peptidoglycane et des lipopolysaccharides, tandis que leur membrane assure protection, détection de l'environnement et transport des nutriments (Mehdizadeh Allaf & Peerhossaini, 2022).

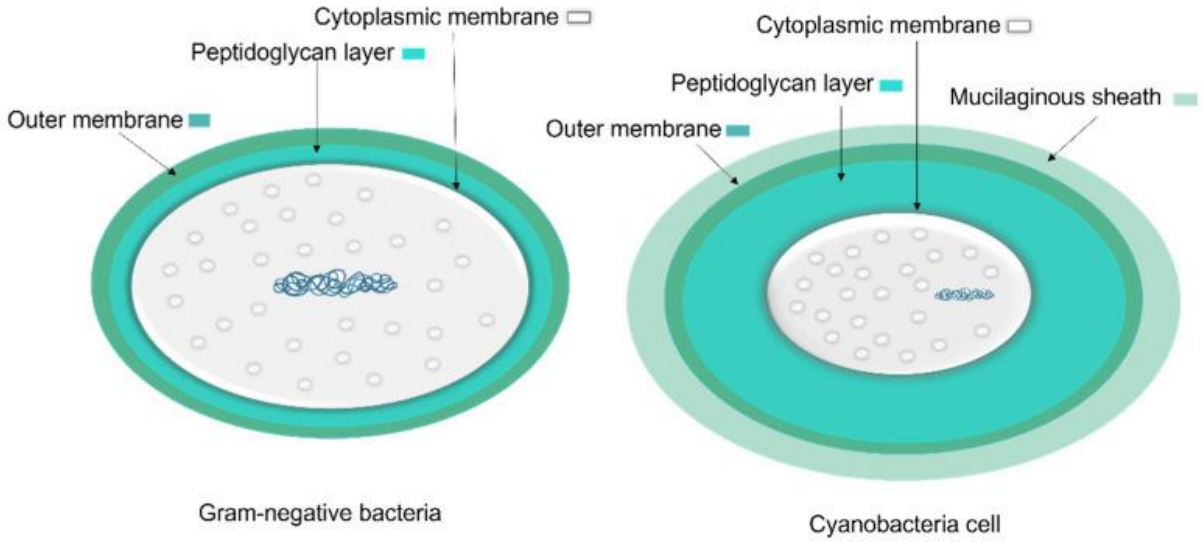



**Figure 2** : Une comparaison des enveloppes cellulaires des bactéries Gram-négatives générales et des cyanobactéries (Mehdizadeh Allaf & Peerhossaini, 2022).

## 1.3 Ecologie et Biologie des Cyanobactéries

La plupart des cyanobactéries sont capables de se déplacer, soit à l'aide de vésicules gazeuses (dans les liquides) soit, dans le cas des cyanobactéries filamenteuses, par glissement (jusqu'à 25 microns par seconde) grâce à des microfibres. Ainsi, elles ont colonisé à peu près tous les milieux, qu'ils soient aquatiques ou terrestres, dans des conditions extrêmes puisqu'on les observe dans les glaces des pôles, dans des sources d'eaux ferrugineuses, dans les geysers (Sguera, 2018).

Certaines cyanobactéries vivent en association avec des organismes animaux ou végétaux. Dans les eaux courantes comme stagnantes, leur mode de vie peut être planctonique (vivant dans la masse d'eau et se laissant transporter par ses mouvements) ou benthique (fixés aux substrats immergés) (Sguera, 2018).

## 1.4 Organisation, fonction et comportement

Les cyanobactéries sont des procaryotes photosynthétiques possédant la capacité de synthétiser la chlorophylle a. Typiquement, l'eau est le donneur d'électrons lors de la photosynthèse, ce qui conduit à l'évolution de l'oxygène (Brian A.Whitton, 2001). La majorité des microalgues et des cyanobactéries sont photoautotrophes et consomment donc du $CO_2$ en utilisant l'énergie de la lumière. Certaines d'entre elles sont capables de croître en l'absence de lumière (c'est-à-dire par croissance hétérotrophe), en utilisant du carbone organique (par exemple, glucose, galactose, fructose, acétate ou glycérol) (Parsy et al., 2024).

Les cyanobactéries ont la capacité de passer facilement à une nutrition mixotrophe en fonction de la composition du milieu nutritif disponible. En tant que mixotrophes, les cyanobactéries sont capables de métaboliser divers substrats organiques, y compris les polluants organiques persistants, qu'elles utilisent comme nutriments, les décomposant en substances moins toxiques ou non toxiques (Inga Z & Liliana C, 2016). Dans ce cas, un effet synergique se produit entre la photosynthèse et la respiration aérobie, où l'$O_2$ et le $CO_2$ générés par l'un des processus sont utilisés par l'autre. Cette interaction favorise une meilleure croissance et accroît la productivité de la biomasse (Parsy et al., 2024).

Les cyanobactéries possèdent de nombreux corps d'inclusion organiques, chacun remplissant des fonctions spécialisées. Parmi ces structures figurent les phycobilisomes (antennes de capture de la lumière), les granules de polyphosphate, les granules de Cyanophycée, les granules de polyhydroxyalcanoate (PHA), les carboxysomes (corps

polyédriques), les corps lipidiques, ainsi que les centres thylakoïdes. De plus, elles contiennent des régions riches en ADN et en ribosomes (Chittora et al., 2020).

Les cyanobactéries possèdent des akinètes, cellules dormantes différenciées, qui leur permettent de survivre aux conditions environnementales changeantes (Mishra et al., 2019). Elles produisent également divers métabolites secondaires jouant un rôle clé dans leur adaptation, notamment des terpènes, alcaloïdes, isoprénoïdes, polykétides (Pks), peptides non ribosomiques (NRPs), peptides modifiés post-traductionnellement (RiPPs), ainsi que des cyanotoxines (hépatotoxine, neurotoxines), des composés photoprotecteurs (scytonémin, acides aminés mycosporine-like) et des antioxydants (Rajeshwar P. Sinha, 2022).

## 1.5 Facteurs influencent la croissance des cyanobactéries

De nombreux facteurs environnementaux et leur effet sur la croissance des cyanobactéries ont été étudiés dans de nombreuses études. Ces études de terrain ont montré que des facteurs environnementaux tels que la température, la lumière, le pH et les nutriments ont un effet significatif sur la croissance des cyanobactéries (Mutoti et al., 2022).

### 1.5.1 Température

Température comprise entre 20°C et 30°C favorisant la croissance optimale des cyanobactéries. Des études antérieures ont montré que Microcystis était sévèrement limité à des températures inférieures à 15°C, avec une température d'environ 25°C propice à la croissance des cyanobactéries. Ainsi, la croissance des cyanobactéries est principalement élevée pendant l'été, car les températures sont normalement élevées. Ces résultats soulignent que les régions tempérées pourraient connaître une augmentation des proliférations de cyanobactéries pendant l'été en raison du changement climatique et du réchauffement climatique (Mutoti et al., 2022).

### 1.5.2 Lumière et flottabilité

Les cyanobactéries possèdent deux systèmes de récolte de la lumière. La chlorophylle-a est responsable de la collecte de la lumière pendant la photosynthèse et les observations indiquent que les cyanobactéries semblent tolérer fortement des intensités lumineuses plus élevées. Des intensités lumineuses élevées augmentent l'apport cellulaire en fer, avant que $Fe^{3+}$ ne soit transporté dans les cellules d'algues. La lumière convertit $Fe^{3+}$ en $Fe^{2+}$, ce qui est responsable d'un taux de croissance cyanobactérien élevé. La présence de vésicules spécialisées

remplies de gaz permet le mouvement des cyanobactéries dans la colonne d'eau, ce qui donne aux cyanobactéries moins de poids et les fait flotter (Mutoti et al., 2022).

### 1.5.3 Phosphore et azote

Le phosphore et l'azote sont des nutriments essentiels à la croissance des cyanobactéries. Les cyanobactéries présentes dans l'eau douce ont besoin de plus de phosphore que d'azote pour une croissance efficace, l'agriculture et les effluents d'eaux usées étant les principales sources de ces nutriments dans ces écosystèmes. L'azote est responsable de l'eutrophisation (Mutoti et al., 2022).

# 2 Spiruline

## 2.1 Définition

La spiruline est une microalgue uni ou multicellulaire et filamentaire. Elle est classée parmi les cyanobactéries, Ce groupe comprend l'ensemble des bactéries autotrophes, c'est-à-dire capables d'utiliser l'énergie de la lumière pour la photosynthèse (Cruchot, 2008).Elle vit en eau salée, alcaline et chaude de température environ 30°C à 40°C.Son nom dérive de la configuration physique spiralée et hélicoïdale de ses filaments, en latin « spira » signifie enroulement. Ces derniers prennent une forme hélicoïdale uniquement quand l'environnement est favorable (liquide ou milieu de culture) (Manet, 2016).

La spiruline possède une morphologie proche celle les algues, et sa teneur de pigments vert et bleu faits les classer parmi les algues bleu-vert (Tsarahevitra, 2005).

En effet, elle est longtemps restée classée parmi les « algues bleu-vert », ce pour plusieurs raisons (Cruchot, 2008).

- Son habitat aquatique,
- La présence d'un système photosynthétique producteur d'oxygène,
- Son aptitude à développer des biomasses importantes,
- Sa morphologie proche de celle des algues,
- Sa couleur liée à sa teneur en pigments bleu (phycocyanine) et vert (chlorophylle).

## 2.2 Taxonomie

La classification de spiruline est décrite comme suit (Manet, 2016).

- ✓ Règne : Monera
- ✓ Sous règne : Procaryota
- ✓ Phylum : Cyanophyta
- ✓ Classe : Cyanophyceae
- ✓ Ordre : Nostocales
- ✓ Famille : Oscillatoriacées
- ✓ Genre : Arthrospira Stizenberger ou Spirulina Turpin

## 2.3 Historique sur la spiruline

La spiruline est un organisme primitif apparu il y a environ 3,5 milliards d'années qui a développé la capacité d'utiliser le dioxyde de carbone dissous dans l'eau de mer comme source de nutriments pour sa reproduction (Habib et al., 2008).

Au XVIe siècle, lorsque les envahisseurs espagnols ont conquis le Mexique, ils ont découvert que les Aztèques vivant dans la vallée de Mexico, dans la capitale Tenochtitlan, récoltaient un « nouvel aliment » du lac. Les chroniqueurs espagnols décrivaient des pêcheurs avec de fins filets récoltant ce « techuitlatl » de couleur bleue dans les lagunes et en faisant un gâteau bleu-vert (Habib et al., 2008).

## 2.4 Morphologie de spiruline

La spiruline est une cyanophycée microscopique d'une longueur moyenne d'environ 250µm. Elle est composée de filaments mobiles de 10 à 12µm de diamètre non ramifiés et enroulés en spirale, généralement en 6 ou 7 spires. Ce filament est appelé trichome ; sa forme hélicoïdale, observable uniquement en milieu liquide, est caractéristique du genre. Et lui donnant l'allure d'un minuscule ressort (Cruchot, 2008; Goulamabasse, 2018).

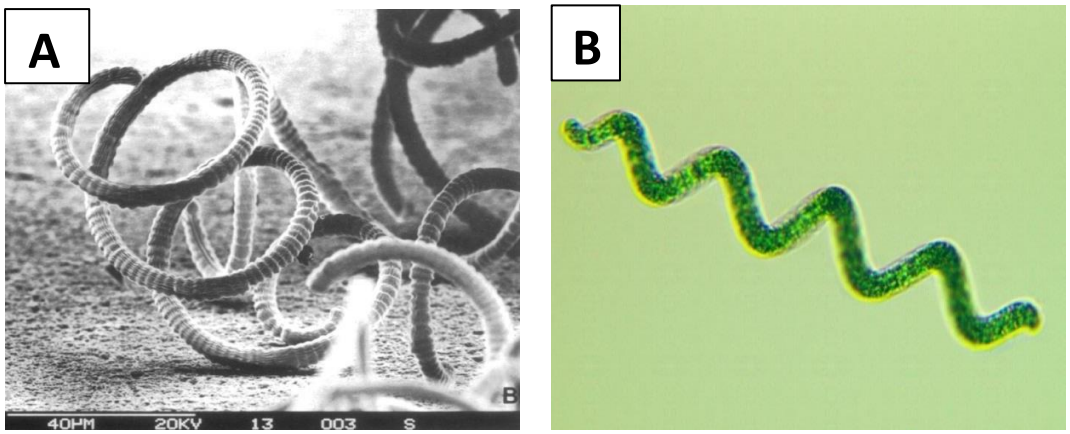



**Figure 3** : Morphologie de la spiruline. A : Image obtenue par microscopie électronique à balayage. B : Image obtenue par microscopie optique (Furbeyre, 2017).

Cependant, les spirulines présentent différentes formes. On trouve des formes spiralées classiques (Figure 4A), ondulées (Figure 4B) et parfois droites (Figure 4C). Cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat

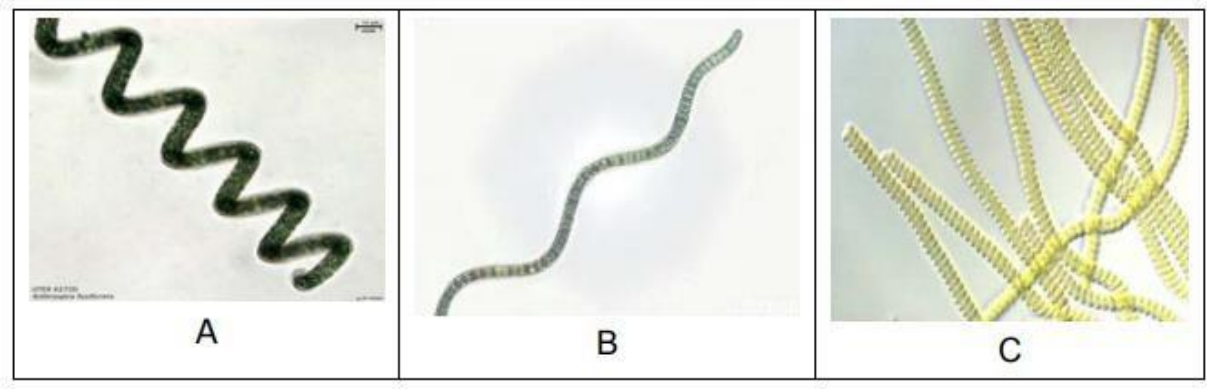



**Figure 4 :** Les différents aspects de la spiruline (Goulamabasse, 2018).

Plus précisément, la spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui – même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au-dessus de spirale. Les facteurs environnementaux telle la température aurait cependant une influence sur l'orientation de l'hélice. Cette morphologie typique lui permet de se déplacer dans l'eau en adoptant le mouvement d'une vis. Le système pigmentaire de la spiruline est constitué de chlorophylle a ; de pigments hydrosolubles, les phycobilines rouge (phycoérythrine) et bleu (phycocyanine) ; de caroténoïdes (β-carotène, cryptoxanthine) (Goulamabasse, 2018).

## 2.5 Répartition géographique

La Spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales (Charpy et al., 2008).

Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située environ entre 35° de latitude Nord et 35°C de latitude Sud (Charpy et al., 2008).

Sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). Cet organisme est dit ubiquiste. Il est cependant beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe (Charpy et al., 2008).

## 2.6 Composition nutritionnelle de la spiruline

La spiruline est une microalgue bien connue pour sa composition chimique complexe et riche en nutriments. La composition de la spiruline est principalement caractérisée par sa haute teneur en protéines, lipides, glucides, vitamines, minéraux et pigments, qui contribuent tous à ses activités biologiques (Spínola et al., 2024).

- La spiruline est principalement composée de protéines (50 à 70 % du poids sec), riches en acides aminés essentiels comme la leucine, la lysine et la méthionine (Spínola et al., 2024).
- Les lipides, représentant 5 à 10 % de la biomasse sèche, sont majoritairement des acides gras polyinsaturés (AGPI) (Spínola et al., 2024).
- Les glucides constituent environ 15 à 20 % du poids sec, principalement sous forme de polysaccharides jouant un rôle structurel et de stockage (Spínola et al., 2024).
- Elle est riche en vitamines (vitamine E, complexe B) et en pigments antioxydants (β-carotène, allophycocyanine, C-phycocyanine, chlorophylle a, zéaxanthine) (Spínola et al., 2022).
- Sa teneur en minéraux varie entre 3 et 11 % de la matière sèche, avec une présence notable de calcium, magnésium, potassium et sodium (Spínola et al., 2022).

## 3 Le genre *Arthrospira platensis*

Spirulina platensis C'est un petit être aquatique (0,3 mm de long), vieux comme le monde dont le nom scientifique est "cyanobactérie *A. platensis*" appartient aux bactéries oxygénées photosynthétiques qui couvrent les groupes Cyanobacteria et Prochlorales. Ce sont des cyanobactéries filamenteuses, non hétérozytées qui sont se trouvent généralement dans les régions tropicales et subtropicales, dans des plans d'eau chauds à forte teneur en carbonate/bicarbonate, à pH élevé et à salinité élevée (Ali & Saleh, 2012).

Spirulina et Arthrospira en tant que deux groupes distincts L'opinion d'Arthrospira et de Spirulina en tant que deux genres distincts a été partagée par plusieurs auteurs plus récents. La séparation entre ces deux genres a été affirmée à plusieurs reprises, sur la base de nombreuses caractéristiques telles que l'hélicité et la taille du trichome, la structure de la paroi cellulaire et la structure des pores, les vésicules gazeuses, les thylakoïdes, la motilité et la fragmentation du trichome, teneur en G et C et la catalogue en oligonucléotide de l'ARNr 16S (Goulamabasse, 2018).

## 4 Potentiels des cyanobactéries

### 4.1 Effet de la spiruline sur la santé

Les essais cliniques ont montré que la spiruline peut servir de traitement complémentaire pour de nombreuses maladies. Les capsules de spiruline se sont révélées efficaces pour abaisser le taux de lipides sanguins, réduire le nombre de globules blancs après la radiothérapie et la chimiothérapie, ainsi que pour améliorer la fonction immunologique. La spiruline est également utilisée pour les aliments santé, les aliments pour animaux et les produits biochimiques depuis les années 1980 (Habib et al., 2008). Elle a également un effet antiarthritique en raison des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes de la phycocyanine, de la propriété antiathérogène, de l'inhibition de la charge tumorale et de la dégénérescence cellulaire (Baylan et al., 2012).

### 4.2 Activité anti-inflammatoire

Le système immunitaire est le principal médiateur de l'inflammation corporelle, les cytokines jouant un rôle central dans l'initiation de l'inflammation. L'activation du système immunitaire entraîne la production de cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF-α, l'IL-

1β et l'IL-6. À ce jour, les avantages de la spiruline pour renforcer l'immunité et améliorer la résistance à la réponse inflammatoire (Wu et al., 2016).

## 4.3 Activité antioxydante

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) attaquent et endommagent les molécules dans les systèmes biologiques, entraînant divers troubles et maladies. Ainsi, le stress oxydatif joue un rôle dans de nombreuses maladies, notamment l'hypertension, le diabète sucré, l'athérosclérose, les maladies ischémiques et les tumeurs malignes. Les peroxydes lipidiques (LPO), le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonénal sont des marqueurs importants du stress oxydatif. Récemment, beaucoup d'attention a été accordée au potentiel antioxydant des espèces de spiruline. De nombreuses études in vitro et in vivo montrent que le traitement par la spiruline réduit considérablement le stress oxydatif. Ces effets antioxydants et protecteurs sont médiés par les phycocyanines, le β-carotène et d'autres vitamines et minéraux contenus dans la spiruline (Wu et al., 2016).

## 4.4 Activité antimicrobienne

La spiruline peut inhiber la croissance de plusieurs micro-organismes en raison de sa riche teneur en ingrédients bioactifs ayant une activité antimicrobienne. Les composés bioactifs de la spiruline peuvent altérer l'intégrité des cellules bactériennes et augmenter la perméabilité cellulaire, ce qui entraîne une fuite du contenu cytoplasmique (Abdel-Moneim et al., 2021).

*A. platensis* est riche en l'acide γ-linolénique antibactérien. Cependant, cet acide a une forte activité uniquement contre les bactéries Gram-positives mais pas contre les Gram-négatives. D'autres composés antimicrobiens majeurs (antibactériens, antifongiques et antiviraux) d'Arthrospira sont la phycocyanine, la phycocyanobiline et l'allophycocyanine, et ils ont également certains effets anticancéreux. Le taxon possède également des flavonoïdes et d'autres composés phénoliques et terpènes, qui sont des antimicrobiens prouvés (Ilieva et al., 2024).

*A. platensis* contient des alcaloïdes, des saponines et des quinones. Les alcaloïdes peuvent interférer avec les composants du peptidoglycane dans la paroi cellulaire des bactéries, endommageant ainsi la paroi et provoquant la mort cellulaire. Les saponines sont des détergents qui peuvent diminuer la tension entre la paroi cellulaire bactérienne et perméabiliser la membrane. Ils réduisent la tension superficielle de la paroi cellulaire, pénétrant ainsi dans la cellule, perturbant le métabolisme cellulaire et provoquant finalement la mort des bactéries. Les

composés quinoniques peuvent se lier aux protéines cellulaires, les rendant dysfonctionnelles, perturbant ainsi le métabolisme cellulaire (Ilieva et al., 2024).

### 4.5 Activité antivirale de la spiruline

La spiruline contient tous les produits biochimiques dans sa constitution qui peuvent construire un système immunitaire sain, qui piège également les radicaux libres. Les composés extraits d'Arthrospira ont une activité inhibitrice contre un large éventail de virus tels que le VIH-1, le HSV-1, le HSV-2, le HCMV, la grippe de type A, la rougeole, etc. Les extraits de cyanobactéries ont un effet antimutagène et anticancéreux et peuvent prévenir le développement et la croissance des tumeurs ainsi qu'inhiber les métastases ou la prolifération des cellules cancéreuses14. Il a été démontré que Spirulina platensis minimise la réplication du VIH-I dans les lignées de cellules T humaines, les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) et les cellules de Langerhans (LC). Des concentrations d'extraits comprises entre 0,3 et 1,2 µg/ml ont réduit la production virale d'environ 50 % dans les PBMC. Un extrait de plateau possède une activité antirétrovirale qui peut présenter un intérêt clinique potentiel (Ali & Saleh, 2012).

### 4.6 Activité anti-cancéreuse

Plusieurs études ont montré que la spiruline ou ses extraits peuvent prévenir ou inhiber les cancers chez l'homme et l'animal. Des études in vitro suggèrent que les polysaccharides uniques de la spiruline améliorent l'activité enzymatique du noyau cellulaire et la synthèse de la réparation de l'ADN (Ali & Saleh, 2012).

## 5 Ressource pour la production de biocarburants

Les organismes photosynthétiques tels que les plantes, les algues et les cyanobactéries sont des candidats appropriés pour la production de biocarburants en raison de leur teneur élevée en lipides, de leur capacité efficace à utiliser le $CO_2$ et de leur besoin minimal en source d'énergie externe. Bien que les plantes et les algues effectuent une photosynthèse oxygénique similaire à celle des cyanobactéries, les cyanobactéries ont émergé comme un candidat potentiel pour la production de biocarburants en raison de leurs propriétés physico-chimiques efficaces (Majhi, 2024).

Les cyanobactéries ont une efficacité photosynthétique plus élevée et une meilleure capacité d'utilisation du $CO_2$, surtout à des niveaux élevés de $CO_2$. Il contient une quantité significative de lipides dans la cellule, environ 50 % du poids sec de la cellule. La teneur en

lipides peut être augmentée davantage en optimisant les conditions de croissance et l'état génétique de la cellule (Majhi, 2024). En plus ils ont une croissance rapide (Nozzi et al., 2013).

Plusieurs études ont réussi à utiliser diverses espèces de cyanobactéries, y compris *Synechocystis*, *Synechococcus*, *Anabaena* et *Nostoc*, pour produire des biocarburants, tels que l'éthanol, l'hydrogène, l'isobutanol, les acides gras libres, le 2-méthyl-1-butanol, le 3-méthyl-1-butanol, les n-alcanes, les alcools gras, l'isoprène, l'éthylène, le limonène et le $\beta$-phellandrène (Majhi, 2024).

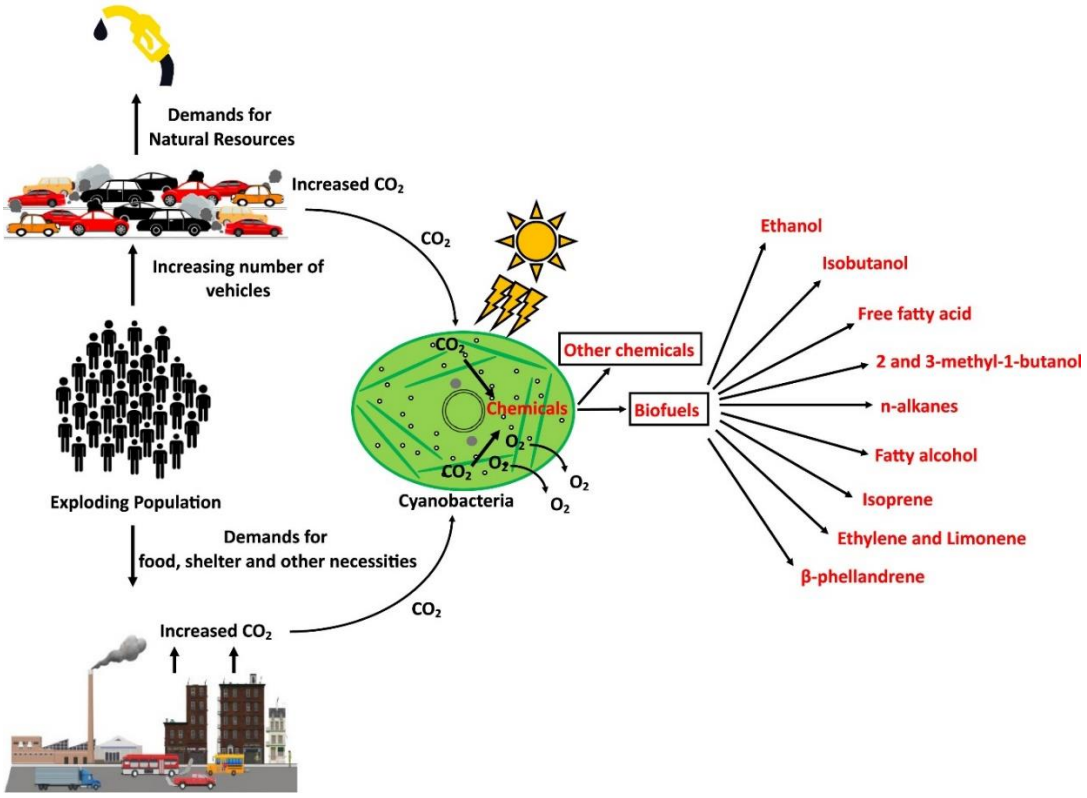



**Figure 5 :** Un aperçu schématique de la production de biocarburants à base de cyanobactéries (les cyanobactéries absorbent de $CO_2$, le transforment en produits organiques et libèrent de l'oxygène. Ces produits sont ensuite convertis en biocarburants par des enzymes) (Majhi, 2024).

# Chapitre 02

# La pollution des écosystèmes aquatiques par les polluants émergents

# 1 Introduction à la pollution par les ATB

La capacité à lutter contre les infections bactériennes grâce aux antibiotiques constitue depuis longtemps une pierre angulaire de la médecine moderne. Cependant, leur utilisation excessive et inappropriée à grande échelle a conduit à des conséquences inattendues (Kraemer et al., 2019).

Une grande partie des antibiotiques ingérés par les humains et les animaux n'est pas complètement métabolisée et se retrouve dans l'environnement par les excréments, les urines et les eaux usées. Leur utilisation excessive ou incorrecte dans des domaines comme la santé, l'agriculture et les usines pharmaceutiques contribue à cette pollution (Barathe et al., 2024). créant un stress sur les microbes et favorisant l'apparition de bactéries résistantes (Fayaz et al., 2024).




**Figure 6** : Source des résidus d'antibiotiques dans l'environnement (Eheneden et al., 2023).

# 2 Définition et l'origine des ATB dans l'environnement

À l'origine, le terme « antibiotique » désignait tout agent ayant une activité biologique contre les organismes vivants, mais il se réfère aujourd'hui spécifiquement à des substances ayant une action antibactérienne, antifongique ou antiparasitaire. Ces agents chimiques inhibent ou éliminent la croissance des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les protozoaires. Les antibiotiques peuvent être classés selon leur structure chimique, leur

mécanisme d'action, leur spectre d'action et leur voie d'administration. Leur origine se divise en trois catégories : naturels (produits par des micro-organismes), semi-synthétiques (modifiés pour améliorer leur efficacité), et synthétiques (complètement fabriqués en laboratoire) (de Ilurdoz et al., 2022).

En 1941, Selman Waksman introduit le terme "antibiotique" pour désigner une molécule produite par un microbe qui inhibe d'autres microbes (Clardy et al., 2009). Il découvre plusieurs antibiotiques, Il a découvert de nombreux antibiotiques produits par des actinomycètes vivant dans le sol, y compris la néomycine et la streptomycine, le premier agent actif contre la tuberculose (Hutchings et al., 2019). Entre 1945 et 1955, le développement de la pénicilline (produite par un champignon), de la streptomycine, du chloramphénicol et de la tétracycline (produites par des bactéries du sol) marque le début de l'ère des antibiotiques (Clardy et al., 2009).

## 3 Source de pollution

La pollution est une question de grave préoccupation. La mauvaise gestion des déchets et des effluents détériore encore plus un écosystème déjà en difficulté (Akhtar & Mannan, 2020).

Les déchets provenant de différents secteurs sont responsables de ce problème. Ces derniers peuvent être illustrées par une longue liste, tel que, déchets agricoles, déchets industriels (non dangereux, dangereux, inertes), Déchets ménagers usuels, déchets des collectivités (espaces verts, nettoiement, boues d'épuration issues de l'assainissement collectif), inertes (déchets de travaux et bricolage), déchets liés à l'automobile (pneus, huiles, … etc.) (Guy & Pujolle, 2008).

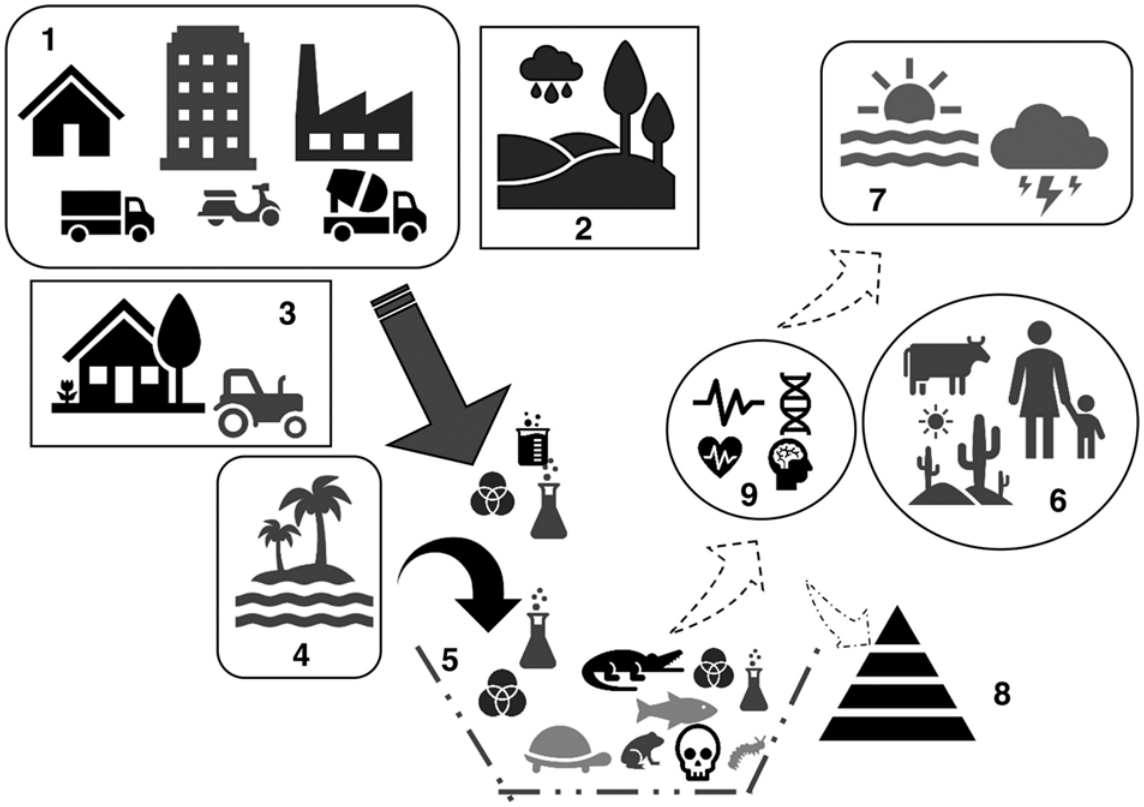



**Figure 7**: Source des polluants environnementaux et leur impact sur la santé. Sources : (1) Logements ruraux et urbains, industries, effluents d'usines, gaz d'échappement des véhicules ; (2) Pollution des sols dans les décharges ; (3) Déchets agricoles ; (4) Pollution des plages due aux activités anthropiques ; Affecte : (5) Pollution de l'eau, affectant la vie aquatique ; (6) Les humains, la flore et la faune sont affectés ; (7) Cycles biogéochimiques ; (8) Accumulation de toxines dans la chaîne alimentaire ; (9) Dommages à la santé et au bien-être en général (Akhtar & Mannan, 2020).

Néanmoins, malgré des repères simples, les déchets constituent souvent des mélanges divers dont la composition varie selon l'époque et le lieu. Un déchet est un déchet pour celui qui le détruit, mais n'en est plus un pour celui qui l'utilise (Guy & Pujolle, 2008).

## 4 Mécanismes de contamination des écosystèmes aquatiques

Les écosystèmes aquatiques sont des environnements basés sur l'eau dans lesquels les composants biotiques interagissent avec les composants abiotiques. Ils se divisent principalement en deux types : marin et d'eau douce. L'écosystème marin, qui couvre plus de 70 % de la surface terrestre, comprend les océans, les estuaires, les récifs coralliens et les côtes (Bashir et al., 2020). Les écosystèmes aquatiques incluent également les zones humides, les rivières, les lacs et les estuaires. On les classe en trois catégories : eau douce, eau salée (océans et estuaires) et eau polaire. Les humains ont peut-être créé un nouveau type d'eau appelé eau polluée (Singh, 2016).

Les écosystèmes aquatiques jouent un rôle essentiel en recyclant les nutriments, purifiant l'eau, atténuant les inondations, maintenant le débit des cours d'eau, rechargeant les

eaux souterraines et offrant des habitats pour la faune ainsi que des espaces de loisirs (Council et al., 1992). Cependant, leur dégradation est liée à l'urbanisation rapide, aux activités industrielles, à l'agriculture et à une mauvaise gestion des terres. La pollution des sols est souvent causée par les émissions des véhicules, l'élimination incorrecte des déchets solides, ainsi que par les industries chimiques et minières (Demarco et al., 2023).

La qualité de l'eau est essentielle pour la santé humaine mais est menacée par divers polluants, dont les métaux lourds, les colorants, les antibiotiques, les perturbateurs endocriniens et les microplastiques (Tyagi et al., 2024). Les polluants émergents, comme les pesticides, produits chimiques, cosmétiques et résidus pharmaceutiques, aggravent cette pollution. Les antibiotiques, en particulier, perturbent le traitement des eaux usées et dégradent les écosystèmes aquatiques (Eheneden et al., 2023).

# 5 Techniques d'analyse et de détection des ATB dans l'eau

## 5.1 Méthodes d'enrichissement et d'extraction des ATB dans l'eau

Les antibiotiques dans les eaux usées urbaines se trouvent généralement à de faibles concentrations. Pour mesurer avec précision ces concentrations, l'enrichissement et l'extraction des antibiotiques par prétraitement sont nécessaires (Zhu et al., 2024). Les méthodes de prétraitement couramment utilisées incluent :

**5.1.1 Extraction en phase solide (SPE) :** Impliquant principalement l'enrichissement, la séparation et la purification des substances cibles dans des échantillons d'eau en utilisant des colonnes d'extraction en phase solide, offrant des avantages tels qu'une opération simple, une forte sélectivité et de bons taux de récupération (Suseela et al., 2023). Les adsorbants peuvent être des matériaux uniques comme des liquides ioniques, des cadres organiques covalents, ou des matériaux composites (Nguyen et al., 2022; Xu et al., 2023).

**5.1.2 Microextraction en phase solide (SPME) :** est une technique de prétraitement sans solvant qui enrichit les analytes cibles en immergeant directement une fibre enduite dans l'échantillon, en utilisant l'effet d'adsorption du matériau de revêtement. De nombreuses études ont réussi à extraire efficacement des traces d'antibiotiques dans des échantillons d'eau en améliorant la structure de la fibre et les matériaux de revêtement (Kardani & Mirzajani, 2022).

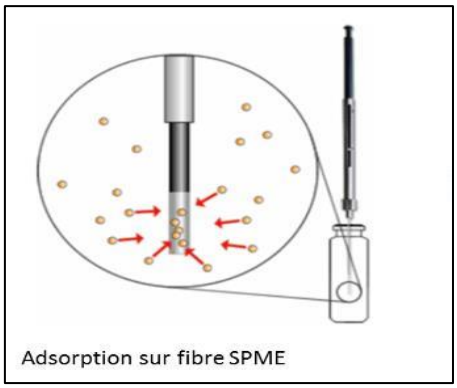



**Figure 8** : Principe de fonctionnement de la SPME (Thibaut Le Guet, 2017).

**5.1.3 Extraction solide en phase magnétique (MSPE) :** basé sur la SPE, utilise des nano-adsorbants magnétiques pour améliorer ses performances, augmentant ainsi sa capacité d'adsorption pour les antibiotiques dans les échantillons d'eau et augmentant sa sensibilité de détection (Fu et al., 2023). Cette méthode est simple, rapide, ne nécessite ni centrifugation ni filtration, et les adsorbants magnétiques peuvent être réutilisés, réduisant ainsi la contamination et les pertes lors du traitement des échantillons (Zhu et al., 2024).

**5.1.4 Extraction Liquide-Liquide (ELL) :** Est le processus de transfert de matière organique d'un solvant à un autre en tirant parti des différentes solubilités de la matière organique dans deux solvants non miscibles (Zeng et al., 2022).

**5.1.5 Microextraction dispersive en phase liquide (DLLME) :** est une technique d'extraction en phase liquide largement utilisée en raison de son fonctionnement simple, de son efficacité économique, de son processus d'extraction rapide, de ses taux de récupération élevés et de ses facteurs d'enrichissement exceptionnels (Zhu et al., 2024).

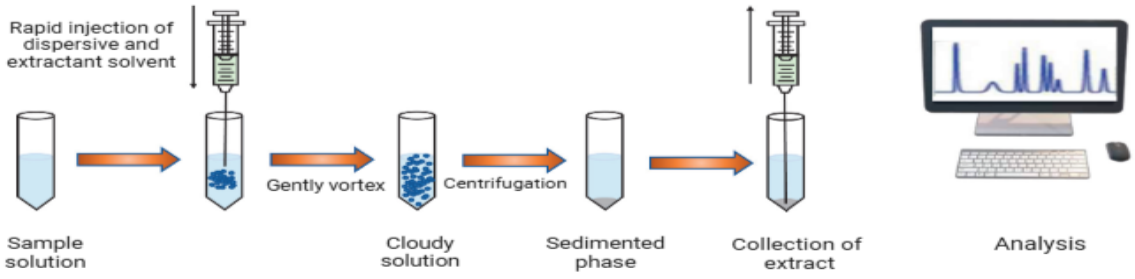



**Figure 9**: Procédure schématique de la technique de microextraction liquide-liquide dispersive (Zeng et al., 2022).

**5.1.6 Polymères Imprimés Moléculaires (PIMs)** : Pour remédier aux limitations de l'extraction en phase solide traditionnelle, telles que la faible sélectivité, la mauvaise durabilité et la réutilisabilité limitée, les polymères à empreintes moléculaires (PIMs) ont émergé comme une alternative prometteuse. Ces matériaux respectueux de l'environnement offrent une grande spécificité et durabilité, améliorant la séparation et l'enrichissement des antibiotiques traces dans l'eau tout en maintenant la qualité de l'eau lors de la séparation et pour enrichir des quantités ultra traces de composés antibiotiques cibles dans l'eau (Zeng et al., 2022).

## 5.2 Méthodes d'immunoanalyse

Les méthodes d'immunodosage sont des techniques traditionnelles utilisées pour détecter les antibiotiques. Cependant, des études ont montré que bien qu'ils puissent détecter de faibles concentrations d'antibiotiques, leur précision peut être affectée par divers facteurs externes, entraînant des erreurs (Luo et al., 2024). Ces méthodes incluent :

**5.2.1 Dosage immuno--enzymatique (ELISA) :** est intrinsèquement rentable et facile à utiliser en termes de fonctionnement, et son application dans la détection des polluants environnementaux tels que les antibiotiques peut encore améliorer la spécificité de détection et abaisser la limite de détection (Zhu et al., 2024).

**5.2.2 Test immunologique à flux latéral (LFIA) :** est une technique d'immunoanalyse simple et rapide qui combine l'immunoanalyse avec des méthodes chromatographiques (Zhu et al., 2024).Toutefois, elle nécessite un prétraitement (dilution, purification, agents de blocage, optimisation du tampon) pour minimiser les faux positifs. Bien que ces étapes améliorent la précision, elles peuvent prolonger le temps de détection (Frigoli et al., 2024). Un axe de recherche actuel porte sur le développement de nanomatériaux composites comme marqueurs de signal, afin d'améliorer l'efficacité et la performance de la LFIA (Zhu et al., 2024).

**5.2.3 Dosage immunologique par fluorescence :** L'immunodosage par fluorescence implique le marquage des anticorps ou des antigènes avec des substances fluorescentes et la mesure de la fluorescence pour déterminer la présence d'antibiotiques (Zhu et al., 2024).

## 5.3 Méthodes d'analyse instrumentale

Les méthodes d'analyse instrumentale sont parmi les techniques les plus couramment utilisées pour détecter les antibiotiques, principalement divisées en méthodes chromatographiques, méthodes spectroscopiques et méthodes spectrométriques de masse (Zhu et al., 2024). Ces méthodes incluent :

**5.3.1 Méthode chromatographique :** La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est la technique chromatographique la plus couramment utilisée pour l'analyse des antibiotiques. Il sépare les composés dans un mélange en fonction de leurs interactions avec une phase stationnaire et une phase mobile (Zhu et al., 2024). Cette méthode fournit des informations à la fois qualitatives et quantitatives en fonction du type de détecteur utilisé (Bernal et al., 2009). Pour améliorer la sensibilité et la précision, la HPLC est souvent couplée à des détecteurs quantitatifs. Les techniques de détection courantes incluent la spectroscopie UV-visible, la détection par fluorescence (FD) et la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), qui permettent une identification et une quantification précises des antibiotiques (Zeng et al., 2022).

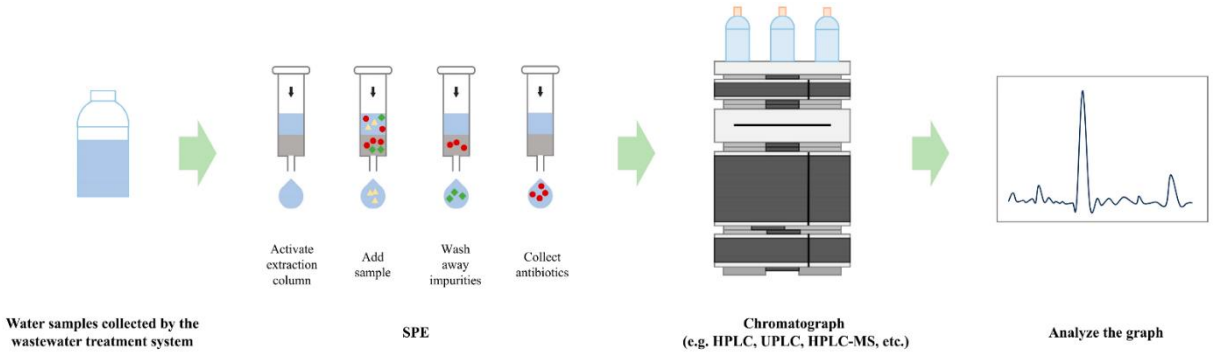



**Figure 10** : Flux de travail des méthodes instrumentales courantes pour la détection des antibiotiques (Zhu et al., 2024).

**5.3.2 Méthodes spectroscopiques :** implique principalement l'analyse de la composition et de la concentration des composés dans un échantillon en quantifiant l'absorbance ou l'émission de lumière à différentes longueurs d'onde. Parmi les différentes techniques spectroscopiques **:**

- Spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis) ; se distingue comme un outil efficace pour la surveillance en temps réel des niveaux d'antibiotiques dans les eaux usées (Zhu et al., 2024).
- Spectroscopie Raman améliorée par surface (SERS) ; est une technique qui ne nécessite pas de marquage et est utilisée pour l'analyse de produits chimiques en traces. Actuellement, la direction de la recherche pour détecter les antibiotiques en utilisant la SERS se concentre principalement sur le développement de substrats SERS pour améliorer la détection des antibiotiques en traces (Zhu et al., 2024).

**5.3.3 Méthodes spectrométriques :** La spectrométrie de masse (SM) est une méthode qui sépare les ions en fonction de leur rapport masse/charge en utilisant des champs électriques et magnétiques pour obtenir une détection quantitative. Il n'est généralement pas utilisé seul mais est souvent combiné avec des méthodes chromatographiques ou spectroscopiques (Hoffmann et al., 2016).

## 5.4 Méthodes de détection des capteurs

La détection des antibiotiques basée sur des capteurs est désormais l'une des méthodes de détection émergentes les plus recherchées et les plus largement utilisées. Ces méthodes offrent une haute sensibilité, une excellente sélectivité et une bonne stabilité, mais en même temps, certains capteurs peuvent avoir des plages d'application relativement étroites et des erreurs de détection plus importantes (Zhu et al., 2024). Les capteurs couramment utilisés incluent :

**5.4.1 Les capteurs électrochimiques :** sont une méthode rapide, économique et sensible pour détecter les antibiotiques dans les eaux usées. Leur spécificité et leur sensibilité peuvent être améliorées en optimisant les matériaux des électrodes. Les nanomatériaux tels que l'or, le graphène, les MOFs et les MIPs ont attiré une attention significative pour améliorer leur performance (Zhu et al., 2024).

**5.4.2 Les capteurs optiques :** sont largement étudiés pour leur haute sensibilité, leur réponse rapide et leur forte spécificité. Les avancées récentes incluent l'impression moléculaire, les nanomatériaux et les bio-interactions pour améliorer les capacités de détection. La modification de matériaux spéciaux a encore amélioré leur sensibilité, leur sélectivité et leur stabilité. Notamment, les cadres organométalliques (MOFs) ont émergé comme des matériaux de détection fluorescente prometteurs pour détecter les composés cibles (Raja Lakshmi et al., 2021; Zhang et al., 2024).

**5.4.3 Biocapteurs :** Un biosenseur détecte les composés chimiques en utilisant un composant biologique tel que des biomolécules, des cellules ou des bactéries. Il se compose de trois parties principales : un élément de reconnaissance biologique (par exemple, des anticorps, des enzymes, de l'ADN), un substrat (par exemple, du silicium, de l'or, du verre) et un transducteur qui convertit l'interaction en un signal mesurable. La réaction chimique produit des signaux tels que la fluorescence, la chaleur, les changements de couleur, les décalages de fréquence ou les variations de conductivité, qui sont ensuite traduits en données quantifiables correspondant à l'amplitude du signal (Magnano San Lio et al., 2023). Les types de biocapteurs les plus courants sont les biocapteurs électrochimiques, optiques, thermiques, piézoélectriques et potentiométriques (Frigoli et al., 2024).Combiner ces biosenseurs avec d'autres technologies peut efficacement améliorer la précision de la détection des antibiotiques dans l'eau (Zhu et al., 2024).

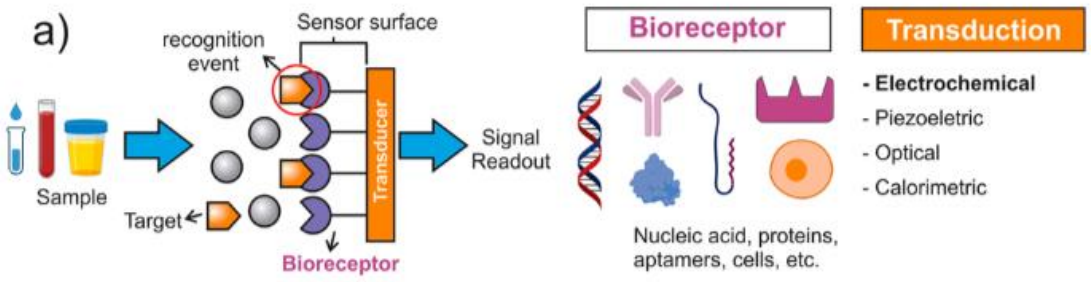



**Figure 11** : Représentation schématique de (a) un dispositif de biocapteur générique montrant un échantillon contenant la cible interagissant avec le biocapteur. Après la reconnaissance, le transducteur est responsable de générer un signal (Frigoli et al., 2024).

# 6 Effet des antibiotiques sur les écosystèmes aquatiques

## 6.1 Effet sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques

Les recherches en écotoxicologie se tournent actuellement vers l'étude des effets sur les écosystèmes de composés actifs à de très faibles concentrations (de l'ordre de la dizaine de mg. $L^{-1}$). Du fait de leur activité biologique, ces molécules ont souvent les mêmes cibles moléculaires chez l'homme et sur les espèces sauvages avec les mêmes effets indésirables**.** Introduits dans l'environnement, ces substances vont affecter par les mêmes voies les animaux ayant des tissus et organes cibles similaires (Colette-Bregrand et al., 2009).

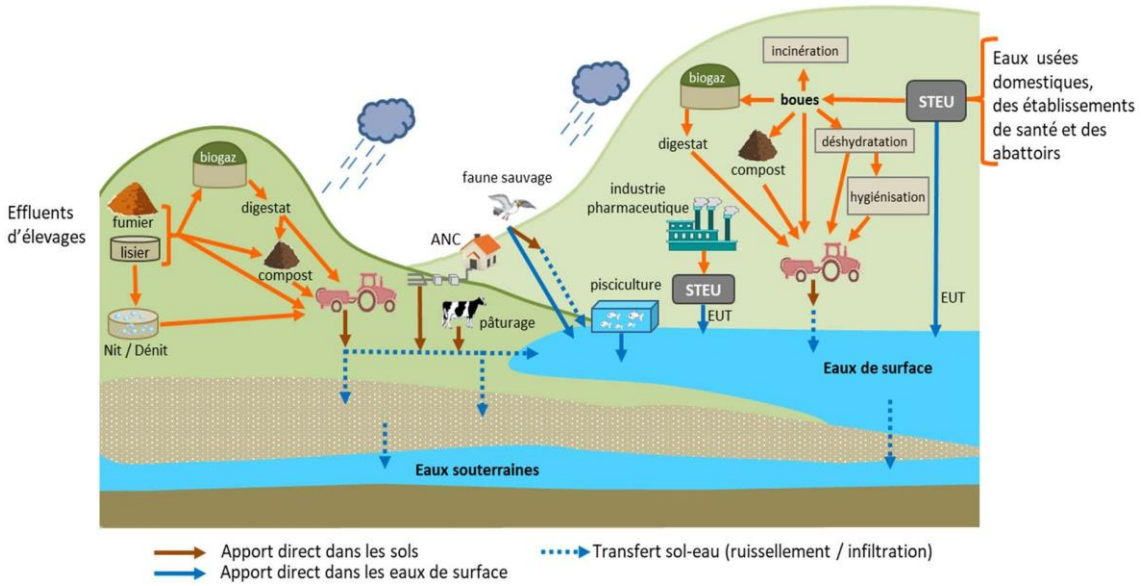



**Figure 12** : Principales voies de contamination des sols et des eaux par les antibiotiques, les bactéries résistantes aux antibiotiques et les gènes de résistance aux antibiotiques (Colette-Bregrand et al., 2009).

## 6.2 Bioaccumulation et effets à long terme sur la chaine alimentaire

L'utilisation excessive d'antibiotiques dans la production alimentaire entraîne la présence de résidus dans les aliments, favorisant des réactions allergiques, une toxicité, des déséquilibres du microbiote et l'émergence de résistances. Le non-respect des limites maximales de résidus aggrave ce problème. Ces résidus, issus du bétail, de la volaille, des hôpitaux et des industries pharmaceutiques, contaminent l'eau et le sol, pénétrant ainsi indirectement la chaîne alimentaire humaine (Bacanlı, 2024).

Les plantes absorbent les antibiotiques présents dans l'eau et le sol contaminés, en particulier les céréales comme le blé, le riz et le maïs, qui peuvent ainsi les transmettre à la chaîne alimentaire (Bacanlı, 2024). Chez les poissons, ces substances causent du stress oxydatif, des troubles reproductifs, des dommages aux tissus, des problèmes métaboliques et une toxicité génétique (Fayaz et al., 2024).

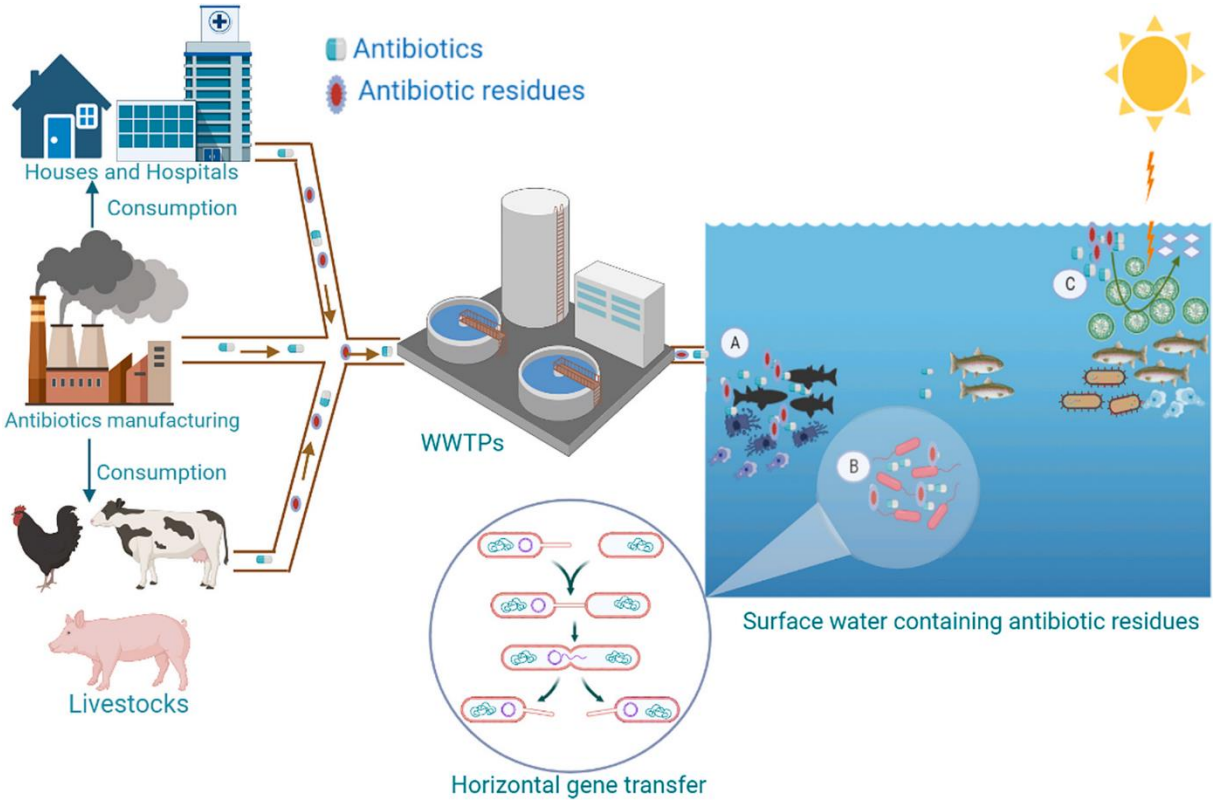



**Figure 13**: Source de pollution par les antibiotiques et ses implications dans l'environnement aquatique. (A) les antibiotiques affectent les organismes non ciblés, (B) développement de gènes de résistance aux antibiotiques (ARGs), (C) les microalgues transforment les antibiotiques en composés non dangereux (Fayaz et al., 2024).

## 7 Le diclofénac : un contaminant pharmaceutique émergent

Le diclofénac (DFN) est un médicament qui appartient à la catégorie des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Shamsudin et al., 2022). Il est utilisé pour traiter les inflammations et les douleurs présentes dans les articulations, les muscles et les os, en exerçant des effets antirhumatismaux, anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques significatifs effets (Parolini et al., 2009). Il est disponible sous diverses formes, telles que des capsules, des pommades et des solutions intraveineuses. Les AINS ont un point d'application unique comme base ; une cascade de réactions associées à la transformation de l'acide arachidonique, le mécanisme biochimique central de l'inflammation. L'effet des AINS vise à inhiber les cyclooxygénases ; les enzymes clés du métabolisme de l'acide arachidonique, qui le transforment en prostaglandines (Ryzhkina et al., 2020).

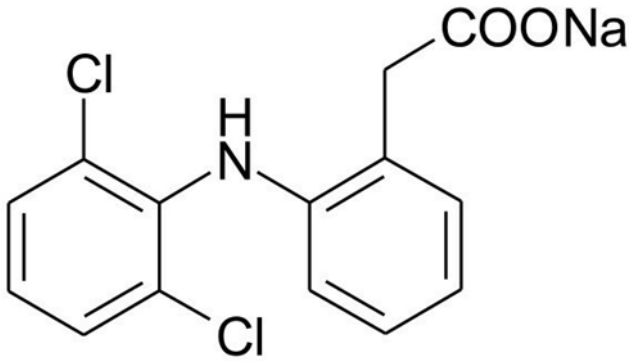



**Figure 14 :** La formule chimique du Diclofénac (Skoutakis et al., 1988).

Les AINS sont trouvés partout dans les milieux d'eau, ce qui soulève des grandes questions écologiques. Le DFN, un des AINS le plus utilisé dans le monde, a été vu comme un polluant important dans les réseaux d'eau à cause de sa grande utilisation dans la santé des gens et des animaux (Rani, 2024). Il est surtout nettoyé dans le foie par méthode d'hydroxylation et de glucuronisation. Environ 65 % de ses métabolites oxydés sont excrétés par les reins, tandis que le reste est éliminé par voie biliaire sous forme de glucuronide d'acyle. Toutefois, une fraction du DFN est excrétée sous forme inchangée, ce qui signifie que le composé parent, non métabolisé, En conséquence, il peut se retrouver dans le système d'égouts à des concentrations de plusieurs centaines de µg L− 1 (Das et al., 2024; Russo et al., 2023). Malgré ses concentrations qui sont relativement faibles, la persistance, la bioaccumulation et la toxicité chronique du diclofénac pour les organismes non ciblés en ont fait un polluant de préoccupation significative (Rani, 2024).

## 7.1 Son effet sur les organismes aquatiques

Le diclofénac (DFN) est aujourd'hui bien reconnu pour affecter aussi bien les micro-organismes aquatiques que les vertébrés supérieurs, et ce, en raison de ses effets écotoxiques le long des chaînes trophiques. (Sathishkumar et al., 2020) ont souligné son impact qui s'étend des microalgues jusqu'aux mammifères, mettant en évidence la perturbation écologique à grande échelle ainsi que le potentiel de bioaccumulation.

Ses effets toxiques chez de nombreux organismes aquatiques différents ont été mis en évidence par d'assez nombreuses études. (Fu et al., 2020) ont constaté des effets néfastes chez plusieurs espèces de poissons. Par ailleurs, (Miller et al., 2018) ont rapporté certaines perturbations physiologiques chez les crustacés ainsi que chez les invertébrés. Une action multifactorielle est bien suggérée par l'absence même d'un mode d'action spécifique qui est souligné par (Cleuvers, 2004a) chez les microalgues, et qui a démontré que le DFN présente bien une toxicité significative à l'égard d'espèces d'eau douce telles que Desmodesmus subspicatus et les daphnies.

Il est assez connu que les AINS, parmi lesquels on retrouve le diclofénac, provoquent certains dommages structurels et fonctionnels aux cellules qui sont exposées. Une certaine réduction marquée de la croissance cellulaire chez Chlorella vulgaris exposée à l'ibuprofène a été observée par (Geiger et al., 2016) . Wang et al., (2020) ont démontré de l'induction d'une phototoxicité chez Scenedesmus obliquus. Ce phénomène perturbe tout le processus photosynthétique et peut être causé par du kétoprofène, un autre AINS. Pareillement, (Gomaa et al., 2021) ont rapporté que Chlorella sp. Ainsi que Desmodesmus spinous exposés à certains médicaments voyaient leurs chloroplastes puis mitochondries mal fonctionner, affectant de ce fait gravement la production d'énergie cellulaire.

En outre, le diclofénac peut causer une forte induction d'un stress oxydatif lors d'une exposition. Das et al., (2024) ont montré que pareille exposition produit excessivement des espèces réactives de l'oxygène (ERO), de plus peroxyde les lipides, oxyde les protéines et endommage l'ADN au sein des cellules algales.

Le diclofénac est en particulier préoccupant bel et bien pour les écosystèmes aquatiques, même cela étant à de faibles concentrations. Cette préoccupation est due à tous ses effets combinés, incluant l'inhibition de toute croissance, l'altération de toutes fonctions métaboliques, la perturbation photosynthétique et tous les dommages oxydatifs.

# Chapitre 03

# La Bioremédiation

La bioremédiation est une technique écologique qui utilise des agents biologiques (microbes et plantes ou leurs enzymes) pour dégrader et détoxifier les polluants organiques et inorganiques afin de protéger l'environnement et la santé publique à faible coût et de manière efficace (Bharagava et al., 2020).

## 1 Généralité

Le terme de biorestauration a été composé de deux parties : « bios » signifie la vie et fait référence aux organismes vivants et « remédier » signifie résoudre un problème environnemental tel que des sols ou des eaux souterraines polluée. En outre, elle représente un moyen de nettoyage les environnements contaminés en exploitant les diverses capacités métaboliques des micro-organismes, pour convertir les contaminants en produits inoffensifs par minéralisation, transformation ou altération, avec génération d'oxyde de carbone, d'eau, ou par conversion en biomasse microbienne (Goswami et al., 2018; Sardrood et al., 2013).

La bioremédiation représente une technologie de pointe et écologiquement durable qui utilise des micro-organismes biologiques pour décomposer et neutraliser les polluants. Cette technique joue un rôle crucial dans l'élimination des toxines environnementales, rétablissant ainsi les écosystèmes à leur état naturel et empêchant toute contamination ultérieure (Kuppan et al., 2024). La biorestauration a été utilisée dans un certain nombre de sites dans le monde, y compris en Europe, avec des degrés divers de succès (Kensa, 2011).

Ces espèces peuvent se trouver dans la zone contaminée (indigènes), ou être introduites dans le milieu (exogène), ou encore être prélevées sur le site contaminé ou cultivées en laboratoire puis réintroduites dans le milieu (bioaugmentation). La biorestauration habituellement réalisée en milieu aérobie, mais l'utilisation de systèmes de biorestauration en milieu anaérobie permet la dégradation de plusieurs molécules résistantes. Il est possible d'éliminer définitivement les déchets et les pollutions. En exploitant des systèmes biologiques plus abordables mais plus durables, on élimine les responsabilités durables (Sardrood et al., 2013).

La Bioremédiation avec des microalgues est particulièrement efficace en raison de leurs capacités à convertir l'énergie solaire en biomasses utiles et à assimiler des nutriments tels que le phosphore et l'azote qui causent l'eutrophisation dans le processus de photosynthèse (El-Sheekh et al., 2016).

Actuellement, il existe diverses méthodes physiques et chimiques disponibles pour l'élimination et la dégradation de divers produits chimiques récalcitrants et nocifs du sol et de l'eau. Cependant, ces méthodes sont coûteuses, produisent des sous-produits toxiques et sont inefficaces pour les produits chimiques faiblement concentrés mais hautement toxiques. Des stratégies ont été élaborées qui peuvent dépasser ces contraintes et offrir une solution face à ces polluants (Akhtar & Mannan, 2020).

Par rapport aux méthodes traditionnelles de décontamination chimique et physique, la bioremédiation est plus écologique, plus facile à mettre en œuvre et moins invasive. Les procédés de bioremédiation permettent d'éliminer, de détoxifier et de réduire la toxicité des substances nocives, y compris les effluents industriels, les métaux lourds, les composés xénobiotiques, les halogènes organiques, les pesticides et les composés chlorés (Kuppan et al., 2024).

L'évaluation de la sécurité et de l'affectivité de toute stratégie d'assainissement est indispensable avant de l'appliquer à un site contaminé donné, afin de répondre à différents critères. Les micro-organismes doivent être capables de dégrader les contaminants à un rythme raisonnable et à un certain niveau réglementaire. Pour qu'une stratégie de biorestauration réussisse, Andreoni et Gianfreda ont conclu que les sous-produits toxiques ne doivent pas être produits, que les substances chimiques inhibitrices doivent être absentes, que les contaminants doivent être biodisponibles et que les conditions doivent être optimisées et maintenues pour favoriser la croissance et l'activité microbiennes. Les différentes techniques employées pour la biorestauration dépendent de trois principes de base : l'aptitude du polluant à la transformation biologique (biochimie), l'accessibilité du contaminant aux micro-organismes (biodisponibilité) et la possibilité d'optimiser l'activité biologique (bioactivité) (Niti et al., 2014).

## 2 Types de bioremédiation

La faisabilité de la bioremédiation dépend de l'emplacement des contaminants. Les approches pour la mise en œuvre de la biorésolution dépendent du fait que le sol impacté soit intact dans l'environnement ou qu'il doive être excavé pour le traitement dans une installation hors site. Si sur place, l'expression « assainissement in situ » suffit et si hors site, elle est décrite comme « ex situ » (Adams et al., 2015)

## 2.1 IN SITU

In situ signifie en latin « à l'endroit d'origine ». Ainsi, la bioremédiation in situ désigne la bioremédiation fondée sur les activités de dégradation des populations microbiennes endogènes. En d'autres termes, il dépend de la flore microbienne indigène des sols et des eaux souterraines. Cela dépend de la prémisse que les micro-organismes déjà présents dans un site contaminé se sont adaptés aux déchets chimiques organiques qui s'y trouvent et sont capables de dégrader une partie ou la totalité des composants de ces déchets ( Sharma, 2019).

Ces techniques assurent le traitement sur place en évitant l'excavation et le transport des contaminants. Elles sont moins coûteuses et généralement les options les plus souhaitables en raison du le moins de perturbations possibles sur le site d'application (Niti et al., 2014).

Le choix d'une biorestauration locale offre des avantages notables, notamment la réduction de la main-d'œuvre physique, les coûts minimisés du transport et l'utilisation de processus naturels (Kuppan et al., 2024).

## 2.2 EX SITU

Ces techniques consistent à extraire les polluants des sites pollués et à les transporter ensuite vers un autre site pour le traitement. Les techniques de bioremédiation ex situ sont généralement considérées en fonction du coût du traitement, de la profondeur de la pollution, du type de polluant, du degré de pollution, de l'emplacement géographique et de la géologie du site pollué (Azubuike et al., 2016).

Selon l'état du contaminant à l'étape de la biorésolution, la biorésolution ex situ est classée comme :

- Système en phase solide (y compris le traitement des sols et les piles de terre), Le système est utilisé pour la bioremédiation des déchets organiques et des déchets domestiques et industriels problématiques, des boues d'épuration et des déchets solides municipaux. La biorestauration en phase solide du sol comprend trois processus, dont l'agriculture des terres, le biodéblayage du sol et le compostage (Sardrood et al., 2013).
- Systèmes de phase de boue (y compris les suspensions solide-liquide dans des bioréacteurs) La biorésolution en phase de boue est un processus relativement plus rapide que les autres procédés de traitement (Sardrood et al., 2013).

## 3 Les avantages et les inconvénients

**Tableau 1**: les avantages et les inconvénients de bioremédiation (Vidali, 2001).

| Avantages | Inconvénients |
|---|---|
| • Processus naturel perçu comme acceptable par le public.<br>• Détruit complètement une grande variété de contaminants.<br>• Évite le transfert de pollution entre les milieux (sol, eau, air).<br>• Peut être effectuée sur site sans perturber les activités normales.<br>• Évite le transport de déchets dangereux hors site, réduisant les risques sanitaires et environnementaux.<br>• Moins coûteuse que d'autres technologies de dépollution.<br>• Réduit la responsabilité future en éliminant définitivement les contaminants. | • Limité aux composés biodégradables.<br>• Certains produits de biodégradation peuvent être plus toxiques que le polluant d'origine.<br>• Les processus biologiques sont souvent très spécifiques.<br>• Difficulté d'extrapolation des études de laboratoire aux applications à grande échelle.<br>• Besoin de recherches pour traiter des sites à contaminants complexes et non uniformément dispersés.<br>• Temps de traitement plus long que les méthodes physiques ou chimiques.<br>• Incertitude réglementaire sur les critères de performance et absence de définition standard du terme "propre". |

## 4 Rôle des microalgues dans la dépollution

Les microalgues sont une solution écologique et efficace pour traiter les eaux usées industrielles, urbaines et agricoles. Leur faible besoin en énergie et leur capacité à éliminer les polluants grâce à la biosorption, la bioaccumulation et la biodégradation les rendent précieuses. Des espèces comme Scenedesmus et Chlorella, capables de s'adapter à divers environnements, éliminent métaux lourds, pesticides et antibiotiques tout en produisant des composés utiles, offrant ainsi une alternative durable pour la gestion de la pollution (Abdelfattah et al., 2023).

L'utilisation des eaux usées pour cultiver des microalgues réduit le besoin d'engrais chimiques, limitant ainsi l'impact environnemental. Cette approche "zéro déchet" permet à la fois de traiter les effluents et de produire de la biomasse pour des biocarburants durables (Abdelfattah et al., 2023). En plus d'éliminer les polluants, les microalgues capturent le $CO_2$ lors de la photosynthèse, contribuant ainsi à la réduction des gaz à effet de serre et à la lutte contre le changement climatique (Iakovidou et al., 2024).

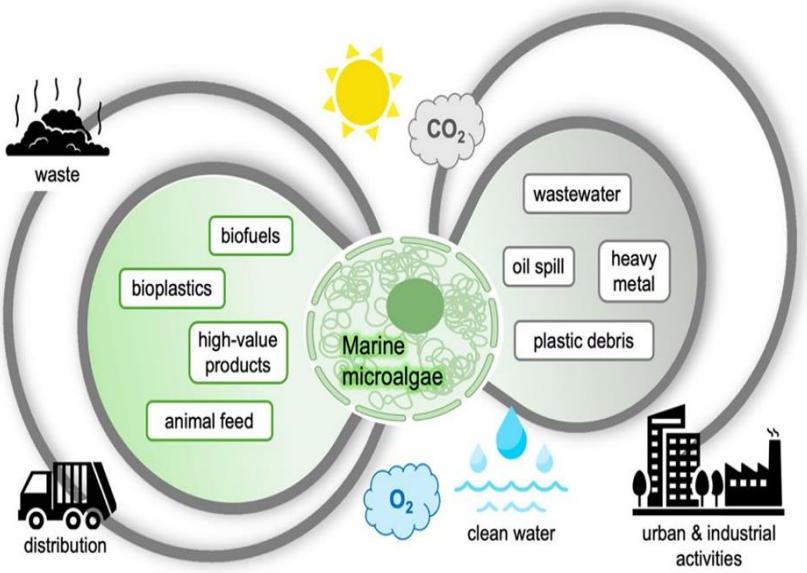



**Figure 15** : Les microalgues marines comme centre de la perspective déchet-à-valeur et de l'économie circulaire (Diankristanti & Ng, 2024).

## 4.1 Types de Microalgues et leurs Polluants Ciblés

Les microalgues absorbent et accumulent efficacement les polluants grâce à leur grande surface et leurs mécanismes d'absorption. Elles séquestrent et dégradent les métaux lourds, hydrocarbures, pesticides et résidus pharmaceutiques par des processus enzymatiques, contribuant ainsi à la dépollution des milieux aquatiques et terrestres (Barra & Greco, 2023).

Voici quelques exemples de microalgues utilisées avec succès dans la phytoremédiation et leur polluants ciblés :

**Tableau 2** : exemple de microalgues utilisées dans la phytoremédiation et leur polluants ciblés

| Microalgue | Polluants | Reference |
|---|---|---|
| *Chlorella spp.* | Métaux lourds (plomb, cadmium, mercure), azote, phosphore, polluants organiques, colorants. | (El-Sheekh et al., 2025; Kundu et al., 2024) |
| *Spirulina (Arthrospira spp.)* | Métaux lourds (arsenic, plomb), polluants organiques, pesticides, colorants. | (El-Sheekh et al., 2025; Webster et al., 2024) |
| *Scenedesmus spp.* | Azote, phosphore, ammoniac, métaux lourds (chrome, arsenic), pesticides, colorants. | (El-Sheekh et al., 2025; Webster et al., 2024) |
| *Haematococcus Pluvialis* | Azote, phosphore, dioxyde de carbone | (Liu & Yildiz, 2019) |

| | | |
|---|---|---|
| *Phaeodactylum tricornutum* | Polluants organiques, nitrates, phosphates, fer (Fe), fluor (F), pesticides, métaux lourds. | (Webster et al., 2024) |
| *Nannochloropsis Oceanica* | Métaux lourds, en particulier le plomb (Pb). | (Webster et al., 2024) |
| *Chlamydomonas spp.* | Métaux lourds, plastiques, polluants chimiques, y compris les colorants chimiques, les pesticides et même le cyanure hautement toxique. | (Webster et al., 2024) |

## 4.2 Mécanisme of bioremédiation

### 4.2.1 Bioaugmentation

Un programme de biorestauration réussi exige habituellement l'application de stratégies adaptées aux conditions environnementales particulières du site contaminé. Les options les plus couramment utilisées pour la bioaugmentation sont : l'ajout d'une souche bactérienne pure pré-adaptée; l'ajout d'un consortium pré-adapté ; l'introduction de bactéries génétiquement modifiées; et ajout de gènes pertinents pour la biodégradation emballés dans un vecteur à transférer par conjugaison dans des micro-organismes indigènes ( Tyagi et al., 2011).

La bioaugmentation est la méthode d'application de micro-organismes sauvages ou génétiquement modifiés, autochtones ou allochtones, sur des sites pollués de déchets dangereux afin d'accélérer l'élimination des composés indésirables (Goswami et al., 2018).

Cette approche vise à accroître le degré ou la vitesse de dégradation des polluants complexes en y ajoutant des microorganismes qui dégradent les polluants. Améliorer le microbiote d'un site contaminé non seulement améliorera l'élimination des polluants du site particulier, mais aussi en même temps augmentera la capacité génétique du site désiré. Par conséquent, la bioaugmentation correspond à une augmentation du pool de gènes et, ainsi, à la diversité génétique du site. En principe, cette diversité génétique pourrait être Augmentation de la diversité microbienne (Goswami et al., 2018).

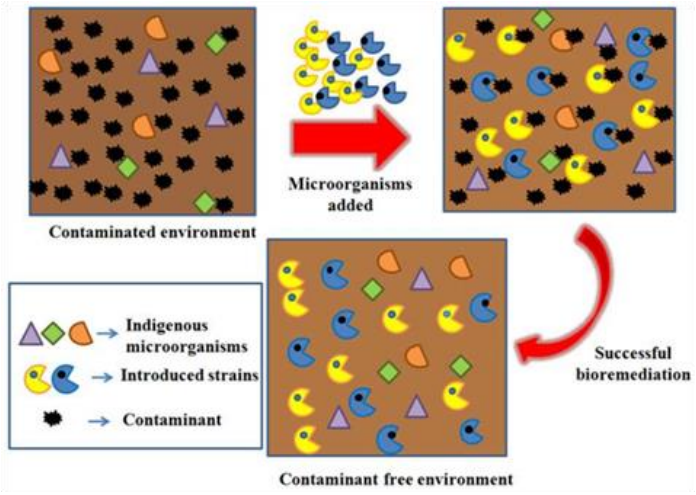



**Figure 16** : Le schéma pictural de la bioaugmentation (Goswami et al., 2018).

### 4.2.2 Biostimulation

La biostimulation est une technique d'assainissement très efficace, rentable et respectueuse de l'environnement. La biostimulation fait référence à l'ajout de nutriments limitant la vitesse, tels que le phosphore, l'azote, l'oxygène et les donneurs d'électrons, à des sites gravement pollués afin de stimuler les bactéries existantes pour qu'elles dégradent les contaminants dangereux et toxiques (Goswami et al., 2018).

Dans la biostimulation, les micro-organismes indigènes sont stimulés pour se développer par l'ajout de facteurs de croissance tels que des nutriments comme le phosphore et l'azote. Parfois, il n'est pas possible de procéder à une dépollution efficace par les micro-organismes indigènes dans des circonstances normales ; il faut donc les stimuler en ajoutant des nutriments, de l'$O_2$ ou d'autres agents oxydants. Les agents stimulants sont généralement appliqués sous terre au moyen de puits d'injection. Dans la plupart des systèmes côtiers fortement contaminés par les hydrocarbures, la disponibilité des nutriments est le facteur limitant de la biodégradation. Cette méthode présente le principal avantage d'impliquer des micro-organismes autochtones qui sont bien adaptés et distribués dans l'environnement (da Silva et al., 2020).

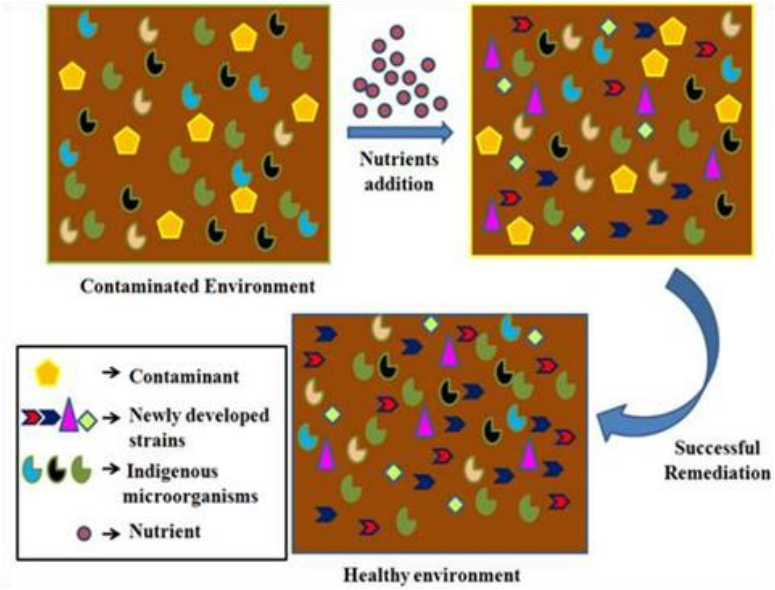



**Figure 17** : Le schéma pictural de la biostimulation (Goswami et al., 2018).

Les différences entre ces deux techniques, notamment en ce qui concerne l'ajout d'espèces sélectionnées et la présence de microorganismes indigènes. Il est également important de considérer que, bien que la bioaugmentation et la biostimulation soient classées comme des stratégies de bioremédiation in situ, elles peuvent toutes deux être appliquées ex situ (da Silva et al., 2020).

### 4.2.3 Biosorption

L'adsorption comprend tous les processus impliquant une interaction physique ou chimique entre la surface d'un matériau solide (adsorbant) et le polluant (adsorbat) ; la biosorption est une sous-catégorie de l'adsorption et peut être simplement définie comme l'élimination de substances de la solution par un matériau biologique (vivant ou mort). C'est une propriété de la biomasse vivante et morte de lier et de concentrer abiotiquement les composés. En plus d'être un processus efficace et peu coûteux, la biosorption offre des avantages par rapport aux processus conventionnels et évite l'utilisation de produits chimiques, à savoir l'apport de nutriments (Silva et al., 2019).

Les parois cellulaires des algues présentent quelques variations dans leur structure. Les principaux groupes présents sont les suivants : amino, amine, hydroxyle, imidazole, phosphate et sulfate. Cette disponibilité de groupes fonctionnels minimise les problèmes de sélectivité et permet d'atteindre plus facilement une efficacité élevée d'élimination. Par exemple, Navarro et al ont proposé la formation de liaisons hydrogène comme principal mécanisme d'élimination

du sulfaméthoxazole et du sulfacétamide par les algues marines *Lessonia nigrescens Bory* et *Macrocystis integrifolia Bory* (Silva et al., 2019).

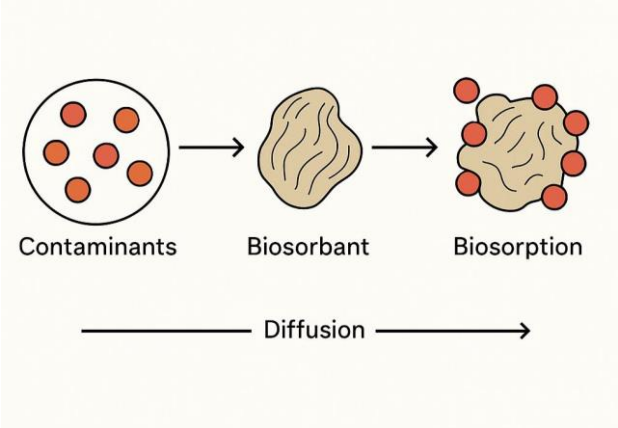



**Figure 18**: schéma général de processus de biosorption

### 4.2.4 Bioaccumulation

Est considérée comme un processus actif et la biomasse vivante est utilisée dans ce processus pour détoxifier les déchets. Dans ce processus, la biomasse absorbe les substances à travers les surfaces et les nutriments. Les composés sont ensuite accumulés ou métabolisés selon le type de biomasse. Elle peut également être définie comme le processus par lequel les polluants organiques et inorganiques, c'est-à-dire les métaux lourds et les pesticides, les nitrates, les sulfates, les phosphates sont transférés à l'intérieur des cellules de l'organisme vivant et sont ensuite absorbés par les organismes vivants. Le processus de bioaccumulation est caractérisé par le facteur de bioconcentration qui est le rapport entre la concentration d'un polluant dans l'adsorbant et la concentration dans le milieu (Mustafa et al., 2021).

# Partie Expérimentale

# Chapitre 01

# Matériels et Méthodes

## 1 Période et lieu de stage

Notre étude expérimentale a été réaliser au niveau de laboratoire pédagogique de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Dr « Yahia Fares » à Médéa, durant la période s'étalant entre le mois de février et le mois d'avril 2025.

## 2 Milieu de culture

Le milieu de culture de Zarrouk, largement utilisé pour la culture de *A. platensis* (spiruline). Le protocole standard de préparation de milieu a été suivi avec quelques modification inspirés de Ainas et al., (2017) est préparé en dissolvant une série de sels minéraux dans l'eau distillée pour fournir les nutriments nécessaires à la croissance optimale de la microalgue. Les composants sont soigneusement pesés et ajoutés progressivement dans environ 1L d'eau distillée sous agitation continue afin d'assurer une dissolution complète avant l'ajout du composé suivant. Le tableau ci-dessous présente les différents composants et leurs concentrations respectives

**Tableau 3** : Composition de milieu de culture Zerrouk

| Composants | Formule chimique | Quantités (g/L) |
|---|---|---|
| Bicarbonate de sodium | $NaHCO_3$ | 13,61 |
| Carbonate de sodium | $Na_2CO_3$ | 4,03 |
| Phosphate dipotassique | $K_2HPO_4$ | 0,5 |
| Nitrate de sodium | $NaNO_3$ | 2,50 |
| Sulfate de potassium | $K_2SO_4$ | 1 |
| Chlorure de sodium | Nacl | 1 |
| Sulfate de magnésium heptahydraté | $MgSO_4.7H_2O$ | 0.20 |
| Chlorure de calcium dihydraté | $CaCl_2.2H_2O$ | 0,04 |
| Sulfate de fer heptahydraté | $FeSO_4.7H_2O$ | 0,01 |

Après dissolution complète des composants, on ajoute de l'eau distillée jusqu'à obtenir un volume final de 5 litres. Le ph du milieu a été ajusté à une valeur optimale généralement autour de 9-10 à l'aide d'une solution de NaOH ou HCL diluée, afin de reproduire les conditions

alcalines naturelles favorisant la croissance d'*Arthrospira*. Une fois le ph stabilisé, un volume de 5 ml de solution A5 a été ajoutée pour compléter la formulation en oligo-éléments essentiels.

**Tableau 4** : Composition de la solution A5

| Composants | Formule chimique | Quantités (g/L) |
|---|---|---|
| Acide borique | $H_3BO_3$ | 2,86 |
| Chlorure de manganèse | $MnCl_2$ | 1,86 |
| Sulfate de zinc | $ZnSO_4$ | 0,22 |
| Molybdate de sodium | $Na_2MoO_4$ | 0,39 |
| Sulfate de cuivre | $CuSO_4$ | 0,08 |
| Nitrate de cobalt | $Co\ (NO_3)_2$ | 0,05 |

Le milieu ainsi préparé a été stérilisé par autoclavage lorsque nécessaire, puis distribué en conditions aseptiques dans les flacons ou bioréacteurs destinés à la culture de la spiruline.

## 3 Choix de polluant (AINS)

Le diclofénac, appelé DFN, a été choisi comme polluant modèle en raison de son utilisation répandue dans le domaine pharmaceutique, notamment en tant qu'un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), et de sa présence fréquente dans les environnements aquatiques et les eaux usées. On sait que ce composé peut avoir des effets toxiques sur les organismes aquatiques, même à de faibles concentrations. Donc Pour étudier les effets de la pollution, des concentrations de DFN allant de 0 à 100 mg. $L^{-1}$ ont été utilisées. Ces niveaux représentent une gamme allant de faible à élever de contamination. L'objectif est d'analyser la réaction d'*A. platensis* face au contaminant et de déterminer sa capacité de tolérance en fonction de l'intensité de l'exposition.

## 4 Cyanobactéries et conditions de culture

*A. platensis*, une cyanobactérie filamenteuse d'un grand intérêt biotechnologique, a été isolée de l'Association Sahara Spiruline (Tamanrasset, Algérie). La culture a été réalisée dans des conditions stériles sur un milieu de Zarrouk. Les cultures ont été maintenues dans des conditions aseptiques à une température de $32 \pm 2$ °C, avec un éclairage fourni par des lampes fluorescentes TORCH® à 3000 lux, suivant un cycle photopériodique de 12 h de lumière/12 h d'obscurité. Le milieu a été transféré dans un volume de 100 mL dans des flacons Erlenmeyer

stériles de 250 ml. Le pH a été soigneusement régulé et maintenu à 9,5 ± 0,02 à l'aide de NaOH ou de HCl. Une culture de départ a été cultivée à température ambiante jusqu'à atteindre une densité de biomasse de 0,5 g/L avant le traitement expérimental, afin d'assurer un inoculum uniforme pour toutes les répétitions expérimentales. Une aération constante à l'air filtré a été assurée pour permettre un mélange homogène et un échange gazeux efficace, favorisant ainsi une croissance vigoureuse des algues durant toute la phase de développement.

## 5 Essais écotoxicologiques

Dans la présente étude, les effets toxiques du diclofénac (DFN) sur *A. platensis* ont été explorés à l'aide d'un essai d'exposition à court terme. Les cultures en phase de croissance active ont été exposées à cinq concentrations distinctes de DFN (0 à 100 mg. $L^{-1}$). Des concentrations environnementalement pertinentes ont induit des effets significatifs sur la croissance algale (…). Une solution mère de DFN a été préparée fraîchement avec du milieu de Zarrouk stérile pour garantir une dissolution complète. Avant l'essai principal, des tests exploratoires ont été réalisés afin de déterminer les limites de concentration adaptées à *A. platensis,* en évitant un stress excessif ou une inhibition totale de la croissance. Chaque concentration a été testée en triplicat, accompagnée d'un groupe témoin n'ayant reçu aucun traitement au DFN. Pendant toute la période d'exposition de 7 jours, toutes les cultures ont été incubées dans les conditions standards de température, de lumière et d'aération décrites précédemment. L'agitation manuelle a été installée trois fois par jour pour garantir l'homogénéisation. Les flacons utilisés étaient munis de couvercles perforés, Pour permettre une ventilation suffisante et l'échange de dioxyde de carbone ; toute l'expérience a été régulièrement évaluée pour surveiller la croissance et les changements physiologiques en réponse aux traitements. À la fin de l'expérience, des échantillons ont été prélevés pour évaluer les altérations induites par le DFN sur la biomasse algale, les niveaux de pigments, les marqueurs de stress oxydatif, l'activité des enzymes antioxydantes et la composition en biocomposants.

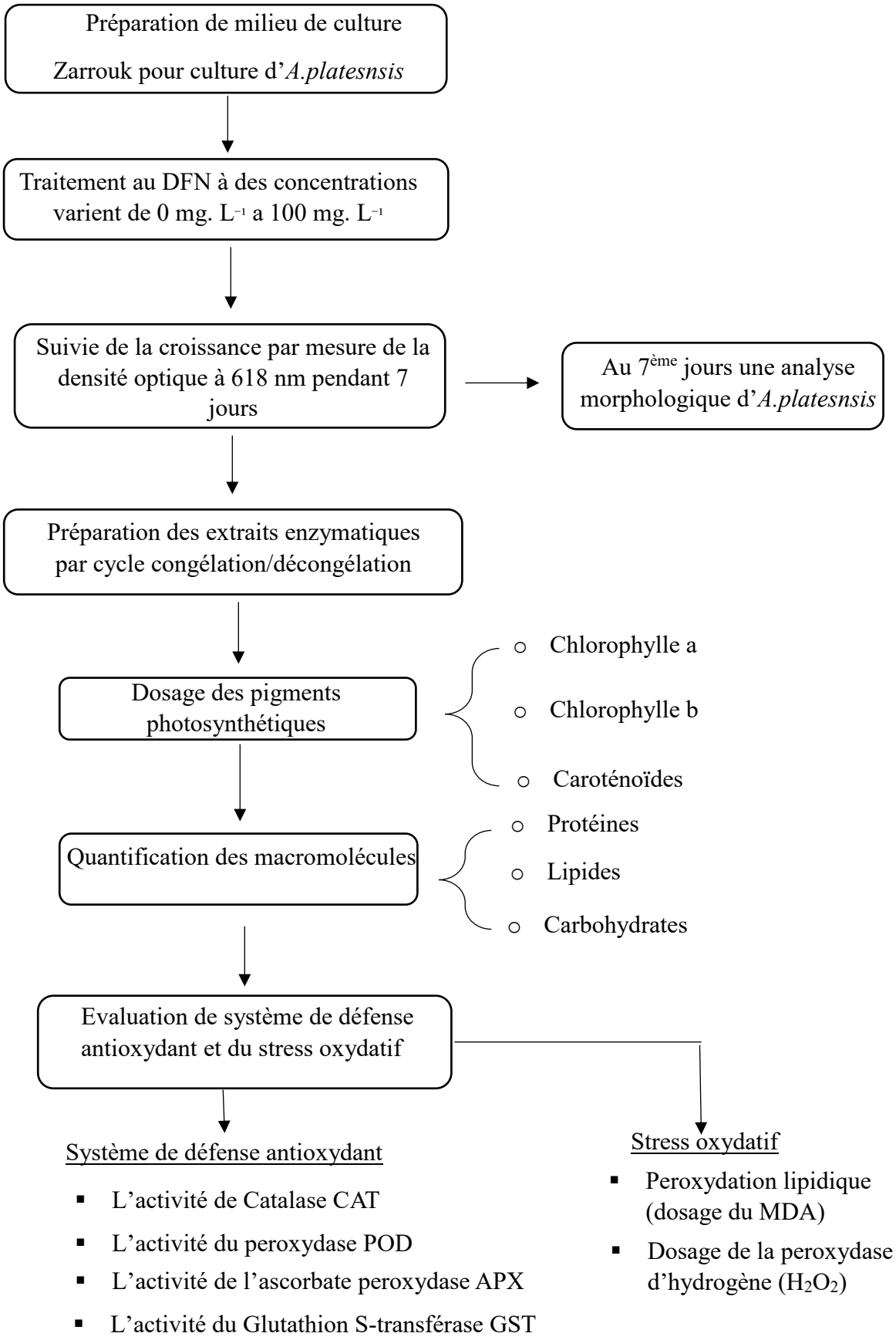



**Figure 19 :** Organisation expérimentale de l'étude

## 6 Évaluation de la croissance et de la biomasse cellulaire

Pour évaluer l'impact de l'exposition d'*A. platensis* à différentes concentrations de DFN. La croissance de cyanobactérie a été enregistrée en mesurant l'absorbance de la suspension cellulaire à 618 nm tout au long les 07 jours d'exposition, en utilisant le spectrophotomètre UV-vis. Les valeurs d'absorbance obtenues ont ensuite été converties en concentration de biomasse sèche (g/L) en utilisant une courbe d'étalonnage préalablement établie, décrite par l'équation suivante :

$$Y=111.1x + 0,0637$$

Où : **Y** correspond à l'$DO_{618}$ mesurée et **X** représente la biomasse sèche (g/L).

## 7 Analyse de la morphologie cellulaire

La morphologie cellulaire d*'A. platensis* a été examiné dans le 7éme jour de l'exposition à l'aide d'un microscope, afin d'évaluer l'impact potentiel de l'exposition au DFN sur l'intégrité et la structure des filaments. On dépose sur une lame porte-objet une goutte de culture de la souche *A. platensis* à examiner, cette goutte est recouverte d'une lame couvre-objet. La préparation est examinée à l'objectif à immersion (100x), après dépôt d'une goutte d'huile à immersion.

## 8 Extraction et estimation des pigments photosynthétiques

### 8.1 Extraction des chlorophylle (a, b) et des caroténoïdes

Réactifs

- Acétone 80%

Protocole

L'extraction des chlorophylle (a, b) et des caroténoïdes a été réalisée en suivant une procédure selon la méthode décrite par (Wang et al., 2020) Un volume de 1 ml de chaque culture de spiruline a été prélevé puis centrifugé a 12000 rpm pendant 10 min a 4°C pour séparer les cellules de surnageant. Les culots obtenus ont été remis en suspension dans 1 ml d'eau distillée pour favoriser l'hydratation des cellules avant d'être soumis à un cycle alterné de congélation (4 heures) et de décongélation, répété de façon continue pendant toute une nuit afin d'améliorer la rupture des cellules et faciliter l'extraction des pigments. Après ce traitement, les culots ont été resuspendus dans 1 ml d'acétone à 80% a été préparée en mélangeant 80 ml d'acétone pure

avec 20 ml d'eau ultra pure afin d'obtenir un volume final de 100 ml, suivis d'un broyage mécanique complet afin d'assurer une extraction maximale des pigments. La suspension obtenue a été soumise à une nouvelle centrifugation à 12000 rpm pendant 10 min à 4°C. L'absorbance de surnageant a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-vis aux longueurs d'onde spécifiques suivantes : 470 nm, 645 nm et 663 nm, correspondant respectivement aux caroténoïdes, a la chlorophylle b et à la chlorophylle a en utilisant l'acide acétone comme standard.

Les teneurs en chlorophylle (Chl a et b) et en caroténoïdes étaient estimé à l'aide de l'équation de (Lichtenthaler, 1987):

- Chl a (µg/ml) = 12, 25 ($A_{663}$) — 2, 79 ($A_{645}$)
- Chl b (µg/ml) = 21, 50 ($A_{645}$) — 5, 10 ($A_{663}$)
- Car (µg/ml) = [(1000 ($A_{470}$) — 1, 82 (Chl a) —85, 02 (Chl b)] /198

# 9 Analyse des paramètres biochimiques d'*A. Platensis*

## 9.1 Evaluation des macromolécules biochimiques

### 9.1.1 Estimation de la teneur en protéines

Réactifs

- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Bleu de Coomassie brillant

Protocole

La procédure employée pour l'extraction des protéines est similaire à celle décrite par (Bradford, 1976). Un volume de 1.5 ml de suspension de microalgues a été prélevés et centrifugés à 12000 tr/min, à 4°C pendant 10 minutes. Après avoir éliminé le surnageant (EPS), les pellets algaux ont été extraits pendant la nuit en utilisant 1 ml de NaOH 2M à 4 °C. Après une deuxième centrifugation, 1 ml de surnageant a été transféré dans un tube à essai. Ensuite 1,5 ml de réactif bleu de Coomassie brillant y a été ajouté, puis le mélange a été laissé pendant 2 minutes dans l'obscurité à température ambiante. Après homogénéisation au vortex, l'absorbance a été mesurée à 595 nm. Le bleu de Coomassie brillant a été utilisé comme standard pour déterminer la teneur totale en protéines.

### 9.1.2 Extraction des lipides

Réactifs

- Acide sulfurique concentré ($H_2SO_4$)
- Réactif phosphovanilline

Protocole

L'estimation de la teneur en lipides cellulaires a été réalisée en suivant le protocole adapté de (Mishra et al., 2014). Les cellules algales ont été collectées par centrifugation 12000 rpm pendant 10 min à 4°C et resuspendus dans un volume connu d'eau distillée. Un aliquote de 1 ml de l'échantillon algal (le culot) a été mélangé avec 2 ml d'acide sulfurique concentré, puis soumis à un bain-marie bouillant pendant 2 heures. Après refroidissement, 5 ml du réactif phosphovanilline a été préparé en dissolvant 0,6 g de vanilline dans 10 ml d'éthanol absolu. La solution obtenue a ensuite été complétée à 100 ml avec de l'eau distillée, puis mélangée avec 400 ml d'acide phosphorique concentré, ont été ajoutés, et le mélange a été incubé à 37°C pendant 15 minutes. L'absorbance a ensuite été mesurée à 530 nm en utilisant le phosphovanilline comme standard.

### 9.1.3 Estimation de la teneur en carbohydrates

Réactifs

- Acide sulfurique ($H_2SO_4$)

Protocole

La procédure de la méthode acide sulfurique-UV proposée est la suivante (Dubois et al., 1956). Un volume de 5 ml de suspension de microalgues a été prélevés et centrifugés à 6000 tr/min pendant 10 minutes. Après avoir éliminé le surnageant (EPS), les pellets algaux ont été récupérés dans des tubes à essai, 1 ml d'eau distillé y ont été ajoutés, puis met dans un bain-marie à 95°C pendant 1 heure et laissé refroidies à température ambiante. Après une deuxième centrifugation 1.5 ml d'acide sulfurique a été ajouté au surnageant et vortexée pendant 30 s. L'ajout d'acide sulfurique provoque une élévation rapide de la température du mélange (en 10 à 15 s). Celui-ci est alors été laissé à refroidir. Enfin, l'absorption de la lumière UV à 315 nm est lue à l'aide d'un spectrophotomètre UV avec l'utilisation de l'acide sulfurique comme un standard pour la détermination de la teneur en carbohydrate.

# 10 Estimation du système de défense des antioxydants enzymatiques et contrôle du stress oxydatif

Les cellules d'*A. platensis* ont été récoltées par centrifugation à 6000 g pendant 15 minutes, puis resuspendus dans 3 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7,0). Afin de provoquer la lyse cellulaire et libérer les enzymes intracellulaires, les échantillons ont été soumis à un cycle de congélation/décongélation à 4 °C, en remplacement de l'étape classique de sonication. Par la suite, une seconde centrifugation a été effectuée (12000 rpm, 10 minutes, 4 °C) pour éliminer les débris cellulaires. Le surnageant obtenu a été utilisé pour la détermination des activités enzymatiques.

## 10.1 Peroxydation lipidique (dosage du MDA)

Réactifs

- Tampon phosphate (50mM)
- Acide thiobarbiturique (TBA 0,1%)
- Acide trichloracétique (TCA 20%)

Protocole

La peroxydation lipidique a été évaluée par dosage du malondialdéhyde (MDA), à partir du protocole de (Heath' And & Packer, 1968). Pour cela, un volume de 500 µl du surnageant a été prélevé et mélangé à 2 ml de réactif TBA (0.1%dans TCA 20%). Le mélange a ensuite été chauffé au bain-marie à 95°C pendant 45 minutes, puis refroidi dans la glace. Après refroidissement, une centrifugation a été réalisée à 4°C pendant 10 min. l'absorbance de la solution finale a été mesurée à 532 nm et à 600 nm, en utilisant le réactifs TBA /TCA comme standard.

## 10.2 Dosage du peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$)

Réactifs

- Tampon phosphate (50 mM)
- Solution de phosphate iodé (KI)

Protocole

Pour la quantification du $H_2O_2$ selon la méthode de (Velikova et al., 2000). Un volume de 100 µl du surnageant obtenu ont été mélangés avec 1,5 ml de tampon phosphate buffer avec 1 ml de potassium iodide qui a été préparée en dissolvant 16,60 g de KI dans 100 ml de l'eau ultra pure. La réaction a permis le développement d'une coloration jaune, indicatrice de la présence de $H_2O_2$. L'absorbance de la solution finale a été mesurée à 390 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-vis, en utilisant le phosphate de potassium et phosphate iodé comme standard.

## 10.3 Activité de l'ascorbate peroxydase (APX)

L'activité de l'APX a été estimée en surveillant la diminution de l'absorbance de l'ascorbate à 290 nm (Nakano & Asada, 1981).

Réactifs :

- Tampon Phosphate (50 mM, pH 7).
- Acide ascorbique (0.5 mM).
- Peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) (0.1m M).

Procédure :

Le mélange réactionnel préparé contenait 1.8 ml de tampon phosphate (pH 7,0), 0.02 ml d'ascorbate (0.5 mM), 0.1 ml de $H_2O_2$ (0.1 mM) et 0.1 ml de l'extrait enzymatique. L'absorbance de chaque échantillon a été enregistrée à 290 nm à l'aide du spectrophotomètre UV-Visible.

## 10.4 Estimation de l'activité peroxydase (POD)

La détermination de l'activité du POD a été adoptée par la méthode décrit par (Kar & Mishra, 1976).

Réactifs :

- Pyrogallol (0.1 mM)
- $H_2O_2$ (12.3 mM)
- Tampon phosphate (50 Mm)
- $H_2SO_4$ (2.5 N)

Procédure :

Le dosage enzymatique a été effectué dans un mélange réactionnel contenant 0.5 ml de pyrogallol (0.1 mM), 0.5 ml de $H_2O_2$, 1.9 ml de Tampon phosphate (50 Mm) et 0.5 ml de l'extrait enzymatique. Après incubation à 25°C pendant 5 min, 1 ml de $H_2SO_4$ (2.5 N) a été ajouté au mélange pour arrêter la réaction. L'absorbance de la solution a été prise à 420 nm par Spectrophotomètre UV-VIS.

## 10.5 Estimation de l'activité de catalase (CAT)

Réactifs :

- Tampon phosphate (50 mM, pH 7).
- $H_2O_2$ (45 mM)

Procédure :

L'activité CAT a été déterminée en termes de diminution de l'absorbance due à la décomposition de $H_2O_2$ selon la méthode de (Hugo Aebi, 1984) Le mélange réactionnel préparé contenait 2.8 ml de Tampon phosphate (50 mM, pH 7), 0.1 ml de $H_2O_2$ (45 mM) et 0.5 ml de l'extrait enzymatique. L'absorbance de chaque échantillon a été enregistrée à 240 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible.

## 10.6 Analyse de Glutathionne-S-transférase (GST)

Réactifs

- 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB)
- Tampon phosphate (50mM)
- Glutathion réduit (GSH)

Protocole

L'activité de la glutathion S-transférase (GST) a été déterminée en utilisant le 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB) comme substrat, conformément à la méthode de (Habig & Jakoby, 1981). La solution de CDNB a été préparée en dissolvant 0,3 g de CDNB dans 25 ml d'éthanol. Le mélange réactionnel final était composé de 300 µL de CDNB, 300 µL de glutathion réduit (GSH) préparé en dissolvant 0,3g dans 25 ml DDW, 2 300 µL de tampon phosphate (50 mM, pH 6,5) et 100 µL d'extrait enzymatique. L'augmentation de l'absorbance, correspondant à la

formation du complexe conjugué GSH-CDNB, a été mesurée à 340 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-vis, en utilisant DDW comme un standard.

## 11 Analyse statistique

Une analyse de la variance à un seul facteur (ANOVA) a été utilisée pour comparer l'effet des différents traitements sur les paramètres mesurés. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics (version 22.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Les résultats sont présentés sous forme de moyennes ± écart-type (ET). Les comparaisons post-hoc ont été réalisées à l'aide du test de Tukey avec un seuil de signification de $P < 0,05$. Les cartes de corrélation de Pearson ont été réalisées à l'aide du logiciel Origin (OriginLab, 2021) et du logiciel GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) pour la visualisation des données.

## 12 Études de Docking moléculaire

Pour étudier l'interaction entre le diclofénac sodique et les principales enzymes antioxydantes, nous avons suivi la méthodologie de docking décrite par (Ainas et al., 2025). Les structures tridimensionnelles de l'ascorbate peroxydase (APX ; PDB ID : 1OAG), la glutathion peroxydase (GPX ; PDB ID : 2P5Q), la glutathion S-transférase (GST ; PDB ID : 1GNW) et la peroxydase (POD ; PDB ID : 1PA2) ont été extraites de la Protein Data Bank (https://www.rcsb.org/, consultée le 11 août 2024). Avant l'ancrage, toutes les molécules inutiles, telles que les ligands et l'eau, ont été éliminées à l'aide de BIOVIA Discovery Studio Visualiser 2020, et les structures protéiques purifiées ont été stockées au format PDB.

La structure 3D du diclofénac sodique (PubChem CID : 5018304) a été téléchargée depuis PubChem au format SDF et convertie au format PDB à l'aide du même logiciel. L'ancrage moléculaire a été réalisé à l'aide d'Auto-Dock Vina 1.1.2, en ciblant l'ensemble de la surface protéique afin de permettre une exploration complète des liaisons. L'ancrage a été effectué avec une valeur d'exhaustivité de 8 afin de garantir un échantillonnage complet. La flexibilité du ligand a été activée et l'algorithme Monte Carlo a été appliqué via l'interface de ligne de commande afin d'améliorer l'efficacité des calculs. Les poses d'ancrage obtenues ont été exportées sous forme de fichiers PDBQT, accompagnées de fichiers journaux détaillés résumant les affinités de liaison. Les meilleurs modes de liaison ont été sélectionnés en fonction de l'énergie de liaison et des profils d'interaction, puis visualisés et analysés à l'aide de BIOVIA Discovery Studio Visualiser (Ainas et al., 2025)

# Chapitre 02

# Résultats

## 1 Effet du diclofénac sur la Morphologie de spiruline

Les observations microscopiques de *A. platensis* exposée à différentes concentrations de diclofénac pendant 7 jours n'ont pas révélé de différences morphologiques très marquées entre les conditions. Toutefois, une tendance générale peut être observée : les filaments du témoin conservent une structure spiralée régulière et une coloration verte homogène. Les structures spiralées typiques sont maintenues jusqu'à 40 mg. $L^{-1}$. À partir de 60 mg. $L^{-1}$, des signes de désorganisation filamentaire, de réduction de la pigmentation et de possibles dégradations morphologiques sont observés, indiquant un stress croissant avec l'augmentation de la concentration en DFN.

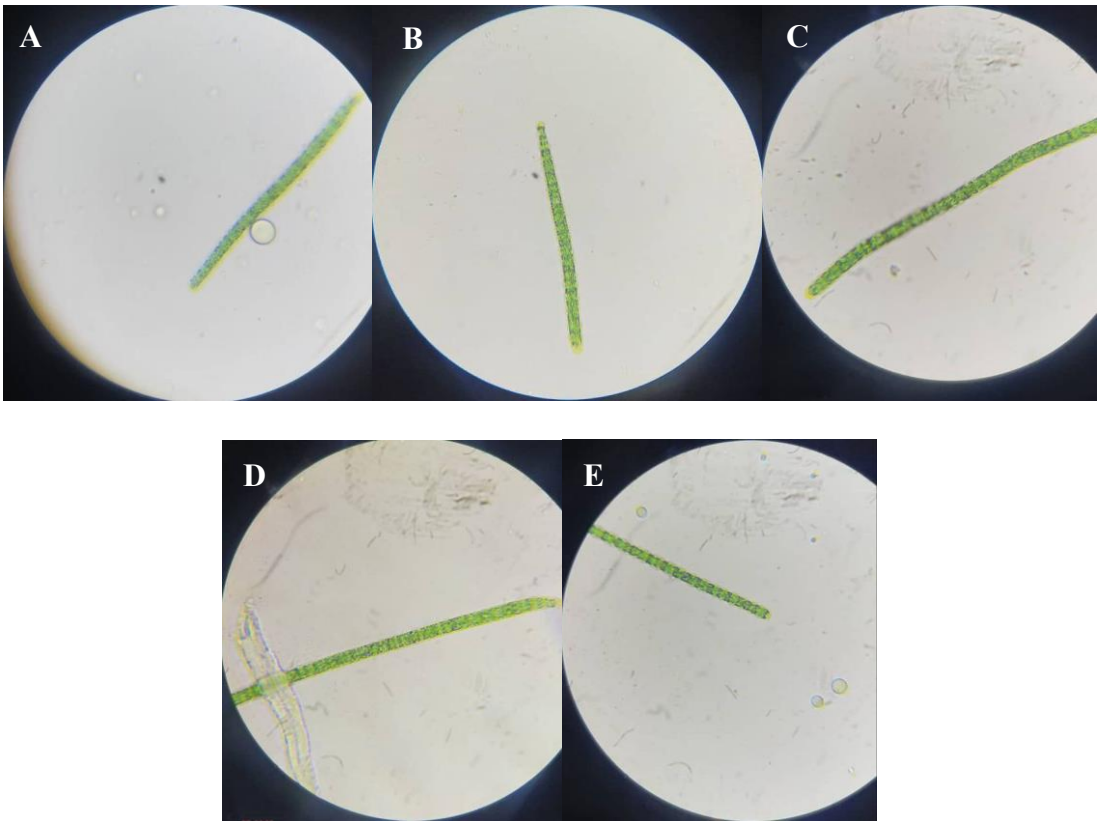


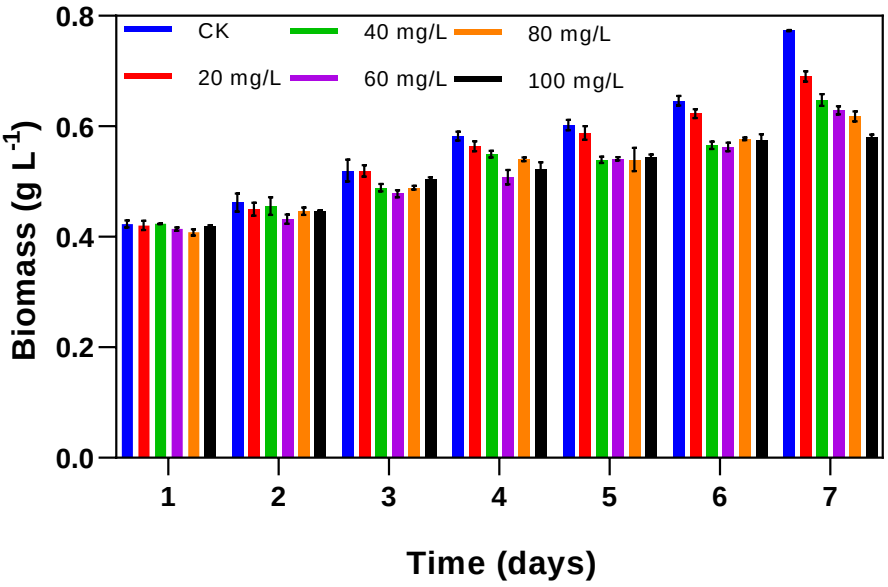

**Figure 20 :** Effet de différentes concentrations de diclofénac sur la morphologie d'*Arthrospira platensis* après 7 jours d'exposition (A) Témoin, (B) 40 mg. $L^{-1}$ de DFN, (C) 60 mg. $L^{-1}$, (D) 80 mg. $L^{-1}$, (E) 100 mg. $L^{-1}$.

## 2 Effet du diclofénac sur la croissance de *A. platesnsis*

La croissance de *A. platensis* a varié en fonction des différentes concentrations de DFN, allant de 0 à 100 mg. $L^{-1}$. Tant le groupe témoin que les groupes traités ont montré une augmentation progressive de la biomasse pendant les 7 jours d'exposition. Cependant, le diclofénac a eu un effet néfaste sur l'accumulation de biomasse, qui dépendait à la fois de la

concentration et de la durée d'exposition (Fig. 21A). Dès le premier jour, le pourcentage de biomasse des cultures traitées variait de 3,7 % à 0,7 %, ce qui était comparable au témoin. Ainsi, bien que la densité cellulaire de *A. platensis* ait augmenté au fil du temps, la croissance était réduite à des niveaux élevés de DFN. Des diminutions significatives ont été observées à partir du troisième jour, en particulier à des concentrations de 40 mg. $L^{-1}$ ou plus. Au septième jour, la rétention de biomasse est tombée à 10,76 %, 16,28 %, 18,7 %, 20,11 % et 25,06 % pour des concentrations respectives de 20, 40, 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$ (Fig. 21A). Ces résultats indiquent que la production de biomasse est significativement inhibée par une exposition prolongée au diclofénac, avec des effets inhibiteurs d'autant plus marqués que la concentration est élevée.

L'exposition au diclofénac a entraîné une augmentation progressive du taux d'inhibition de croissance de *A. platensis* sur la période de 7 jours. Durant les deux premiers jours, l'inhibition était minimale (1 à 4 %) pour toutes les concentrations (Fig. 21B). À partir du troisième jour, les taux d'inhibition ont commencé à augmenter, en particulier à fortes concentrations. Au septième jour, l'inhibition atteignait respectivement 10,76 %, 16,28 %, 18,7 %, 20,11 % et 25,06 % pour des concentrations de 20, 40, 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$. Ces résultats confirment une suppression de la croissance dépendante du temps et de la dose sous stress au diclofénac (Fig. 21B).



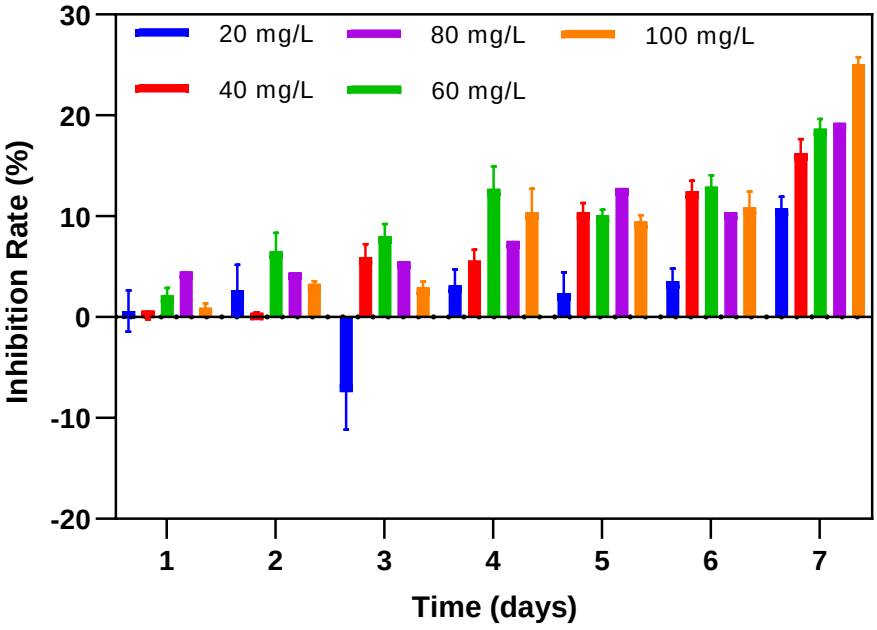



**Figure 21 :** Effet du diclofénac (DFN) sur la croissance d'*Arthrospira platensis* en termes de (a) biomasse et (b) taux d'inhibition au cours des 7 jours de culture. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$.

## 3 Effet du diclofénac sur les pigments photosynthétiques

La composition en pigments photosynthétiques de *A. platensis* a été notablement affectée par l'exposition au DFN. Comparé au groupe non traité, la teneur en chlorophylle a a montré une diminution claire dépendante de la concentration, avec des réductions de 18,36 %, 23,33 %, 30,26 %, 47,25 % et 39,57 % aux concentrations de 20, 40, 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$ respectivement (Fig. 22A). Les niveaux de chlorophylle b ont suivi une tendance similaire à la baisse, avec des réductions de 11,32 %, 28,05 %, 23,21 %, 45,27 % et 40,24 % aux mêmes concentrations (Fig. 22B). À de faibles concentrations de DFN (20 et 40 mg. $L^{-1}$), une augmentation significative de la teneur en caroténoïdes a été observée, atteignant 200 % par rapport au témoin. En revanche, à des concentrations plus élevées (60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$), aucune différence statistiquement significative n'a été observée comparée au contrôle. Ces résultats suggèrent que de faibles doses de DFN peuvent stimuler l'accumulation de caroténoïdes en tant que mécanisme de protection, mais cette réponse semble limitée à des doses plus élevées (Fig. 22C). Pris ensemble, ces résultats montrent que le DFN perturbe l'appareil photosynthétique de *A. platensis*, en particulier par la réduction des niveaux de chlorophylles, tandis que les caroténoïdes peuvent être régulés à la hausse comme mécanisme photoprotecteurs ou de réponse au stress.

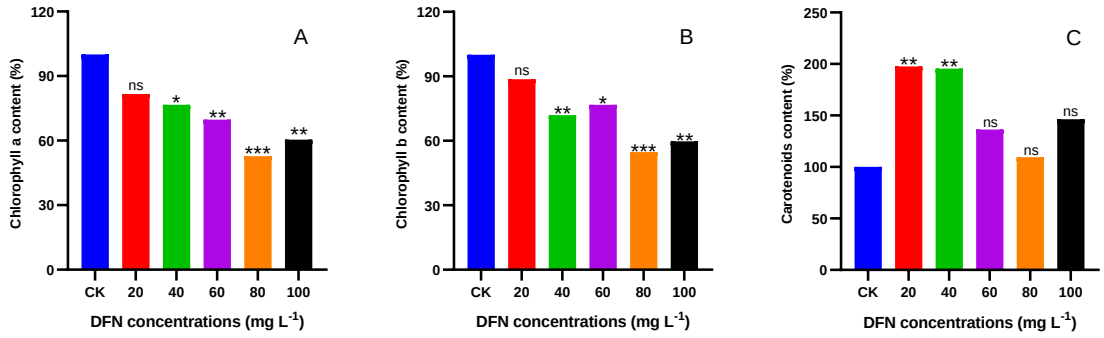



**Figure 22**: Effet du diclofénac (DFN) sur les teneurs en (a) chlorophylle a, (b) chlorophylle b et (c) caroténoïdes chez *Arthrospira platensis*. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$.

## 4 Effet du diclofénac sur les biocomposants primaires

La concentration en protéines, lipides et glucides de *A. platensis* a également été mesurée afin d'évaluer l'impact de l'exposition au DFN sur la composition macromoléculaire. La teneur en protéines a montré une augmentation dépendante de la dose, avec des hausses de 12,09 %, 6,93 %, 11,75 %, 16,3 % et 19,95 % aux concentrations de 20, 40, 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$ respectivement (Fig. 23A). En revanche, la teneur en lipides a diminué de manière progressive avec l'augmentation de la concentration de DFN, avec des réductions de 29 %, 32,25 %, 33,7 %, 31,88 % et 33,7 % aux mêmes concentrations (Fig. 23B). Ces résultats suggèrent que l'exposition au diclofénac entraîne des modifications significatives de la composition macromoléculaire (réserves énergétiques) de *A. platensis*, avec une augmentation de la teneur en protéines mais une diminution marquée des niveaux de lipides et de glucides, en particulier à des concentrations élevées.

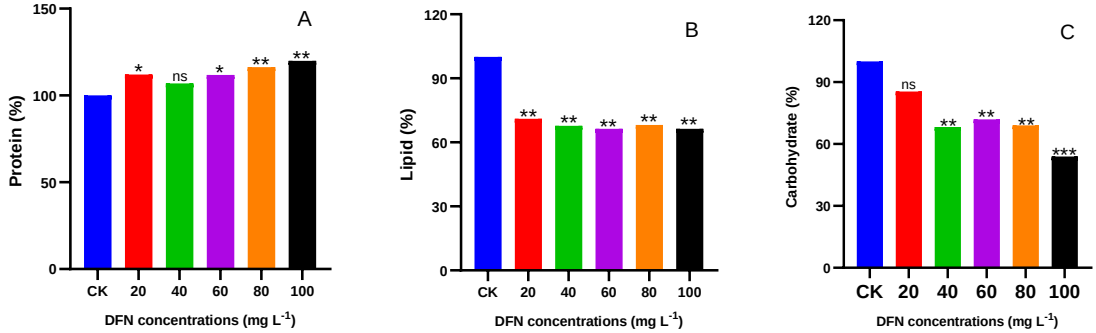



**Figure 23**: Effet du diclofénac (DFN) sur les teneurs en (A) protéines, (B) lipides et (C) carbohydrates chez *Arthrospira platensis*. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$.

## 5 Effet du diclofénac sur les biomarqueurs oxydatifs

Les niveaux de MDA et d'$H_2O_2$ ont également été mesurés afin d'évaluer l'ampleur du stress oxydatif induit par le DFN chez *A. platensis*. Le MDA, marqueur de la peroxydation lipidique, a montré une augmentation dépendante de la dose, avec des hausses de 44,97 %, 46,06 %, 64,04 %, 80,89 % et 60,67 % aux concentrations de 20, 40, 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$ respectivement (Fig. 24A). En revanche, les niveaux de $H_2O_2$ ont présenté une réponse plus complexe. À 20 mg. $L^{-1}$, la concentration de $H_2O_2$ a diminué de 7 %, tandis qu'à des concentrations plus élevées, elle a progressivement augmenté de 41,37 %, 65,51 %, 78,16 % et 112,64 % aux concentrations de 40, 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$ respectivement (Fig. 24B). Ces résultats suggèrent que l'exposition au diclofénac induit une augmentation du stress oxydatif chez *A. platensis*, comme en témoignent les niveaux élevés de MDA et de $H_2O_2$, avec des effets plus prononcés aux concentrations les plus élevées.

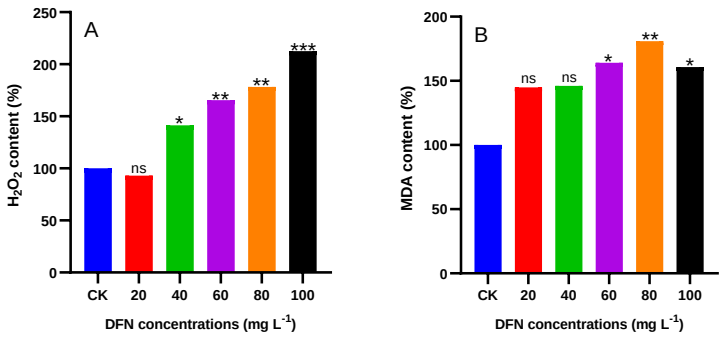



**Figure 24**: Effet du diclofénac (DFN) sur les teneurs en (A) peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) et (B) malondialdéhyde (MDA) chez *Arthrospira platensis*. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$.

## 6 Effet du diclofénac sur le system antioxydant

Les résultats ont montré que l'exposition à des concentrations croissantes de DFN affecte de manière variable les activités des enzymes de défense antioxydante chez *A. platensis*. L'activité de la catalase (CAT) a augmenté progressivement avec la concentration de DFN, avec des hausses de 27,01 %, 28 %, 28,2 %, 37,4 % et 38 % aux concentrations de 20, 40, 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$ respectivement, comparativement au témoin (Fig. 25A). De manière différente, l'ascorbate peroxydase (APX) a montré une réponse contrastée : une légère augmentation de 1,23 % à 20 mg. $L^{-1}$, suivie de réductions significatives de 18,6 %, 46,45 %, 51,23 % et 38,02 % aux concentrations supérieures (Fig. 25B). En revanche, l'activité de la peroxydase (POD) a diminué de 18,78 %, 11,51 %, 12,52 %, 17,11 % et 12,54 % pour les

concentrations de 20, 40, 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$ respectivement (Fig. 25C). Enfin, l'activité de la glutathion S-transférase (GST) a également diminué, avec des baisses de 8,49 %, 34,44 %, 17 %, 17,56 % et 16,89 % aux mêmes concentrations (Fig. 25D). Dans l'ensemble, ces données indiquent que le DFN induit un stress oxydatif chez *A. platensis*, avec des effets variables sur les voies enzymatiques de défense : il stimule l'activité de la catalase, tout en réduisant progressivement celles de l'APX, de la POD et de la GST.

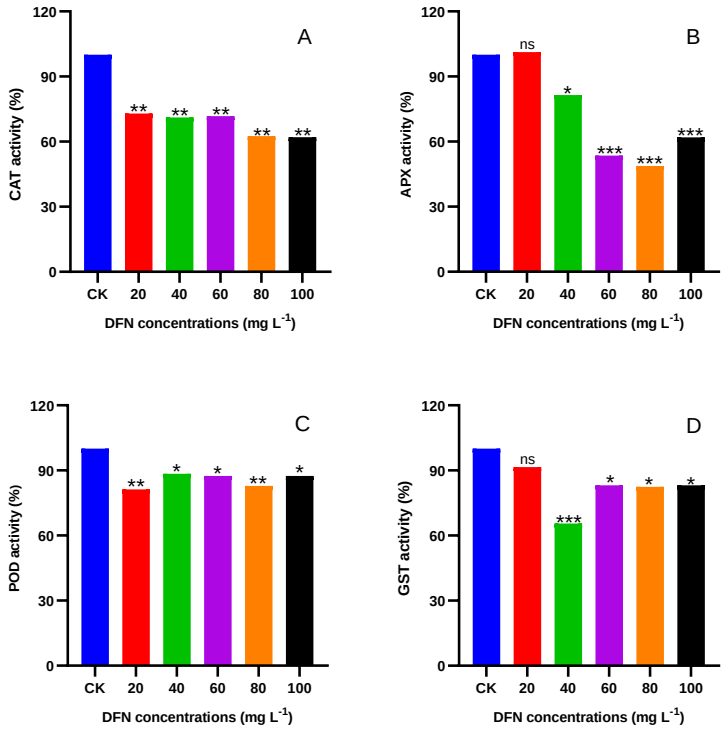



**Figure 25**: Effet du diclofénac (DFN) sur les activités de (A) la catalase (CAT), (B) l'ascorbate peroxydase (APX), (C) la peroxydase (POD) et (D) la glutathion S-transférase (GST) chez *Arthrospira platensis*. Les astérisques (*) indiquent des différences significatives selon le test de Tukey au seuil de $p \leq 0,05$.

## 7 Analyse de corrélation

L'accumulation de biomasse de *A. platensis* est fortement à raisonnablement corrélée positivement avec l'ensemble des paramètres mesurés, à l'exception de $H_2O_2$, MDA et des protéines totales (Prt) (Fig. 26). De même, le taux de chlorophylle est également, de manière surprenante à raisonnablement évidente, corrélé avec tous les paramètres évalués, sauf $H_2O_2$, MDA et Prt, ce qui souligne son rôle dans l'accroissement de la production de biomasse. Fait intéressant, le MDA et le $H_2O_2$ sont inversement corrélés avec les caractéristiques de croissance, ce qui indique leur rôle en tant que marqueurs de stress oxydatif et suggère qu'ils ne participent pas directement au développement de la biomasse. Les enzymes antioxydantes telles que l'ascorbate peroxydase et la catalase sont directement corrélées avec la concentration en

biomasse, car elles réduisent les dommages oxydatifs et contribuent à l'homéostasie cellulaire en conditions de phytotoxicité.

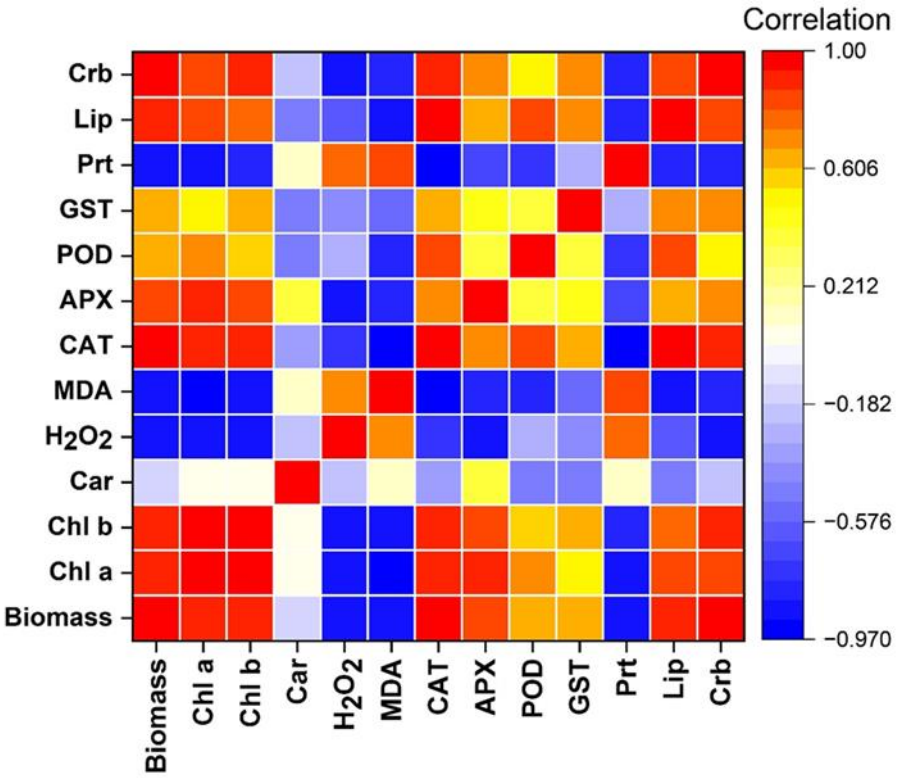



**Figure 26:** Carte de corrélation de Pearson des paramètres mesurés. La Cyanobactérie d'eau douce Arthrospira platensis a été exposée à différentes concentrations de diclofénac (DFN) (0_100mg. L) pendant 7 jours. Chl a (chlorophylle a) ; Chl b (chlorophylle b) ; Car (caroténoïdes) ; MDA (malondialdéhyde) ; $H_2O_2$ (peroxyde d'hydrogène) ; CAT (catalase) ; GST (glutathion-S-transférase) ; APX (ascorbate peroxydase) ; POD (peroxydase) ; protéines (Prt) ; glucides (Carb) et teneur en lipides (Lip).

## 8 Docking moléculaire

Une analyse de docking moléculaire a été réalisée afin de caractériser l'interaction du diclofénac sodique avec les enzymes antioxydantes peroxydase ascorbate (APX) et peroxydase glutathion (GPX), comme le montre la figure 27. Les panneaux (a) et (b) illustrent les interactions de liaison tridimensionnelles et bidimensionnelles entre le diclofénac sodique et l'APX, révélant une énergie de liaison de -8 kcal/mol, indicative d'une formation complexe forte et stable. Le ligand a établi plusieurs interactions clés au sein du site actif de l'APX, notamment une liaison hydrogène conventionnelle avec Ser173, des interactions pi-pi en forme de T avec His163 et Trp179, et des interactions pi-alkyle impliquant Ala168 et Arg38, ainsi qu'une interaction donneur-donneur mineure et défavorable avec His169. En comparaison, les panneaux (c) et (d) montrent le profil d'interaction du diclofénac sodique avec la GPX, où une énergie de liaison légèrement plus faible de –6,4 kcal/mol a été observée. Dans la poche de

liaison GPX, le diclofénac sodique a formé trois liaisons hydrogène conventionnelles avec Glu80, Gly82 et Gln86, soutenues par des interactions pi-pi empilées en T avec Phe90 et des interactions pi-alkyle avec Lys43. Collectivement, ces résultats suggèrent que le diclofénac sodique présente une affinité de liaison plus forte envers l'APX, principalement due aux interactions pi-pi et aux liaisons hydrogène, tandis que son interaction avec la GPX est principalement caractérisée par la formation de liaisons hydrogène, ce qui met en évidence des différences dans les mécanismes de liaison et la sélectivité enzymatique potentielle.

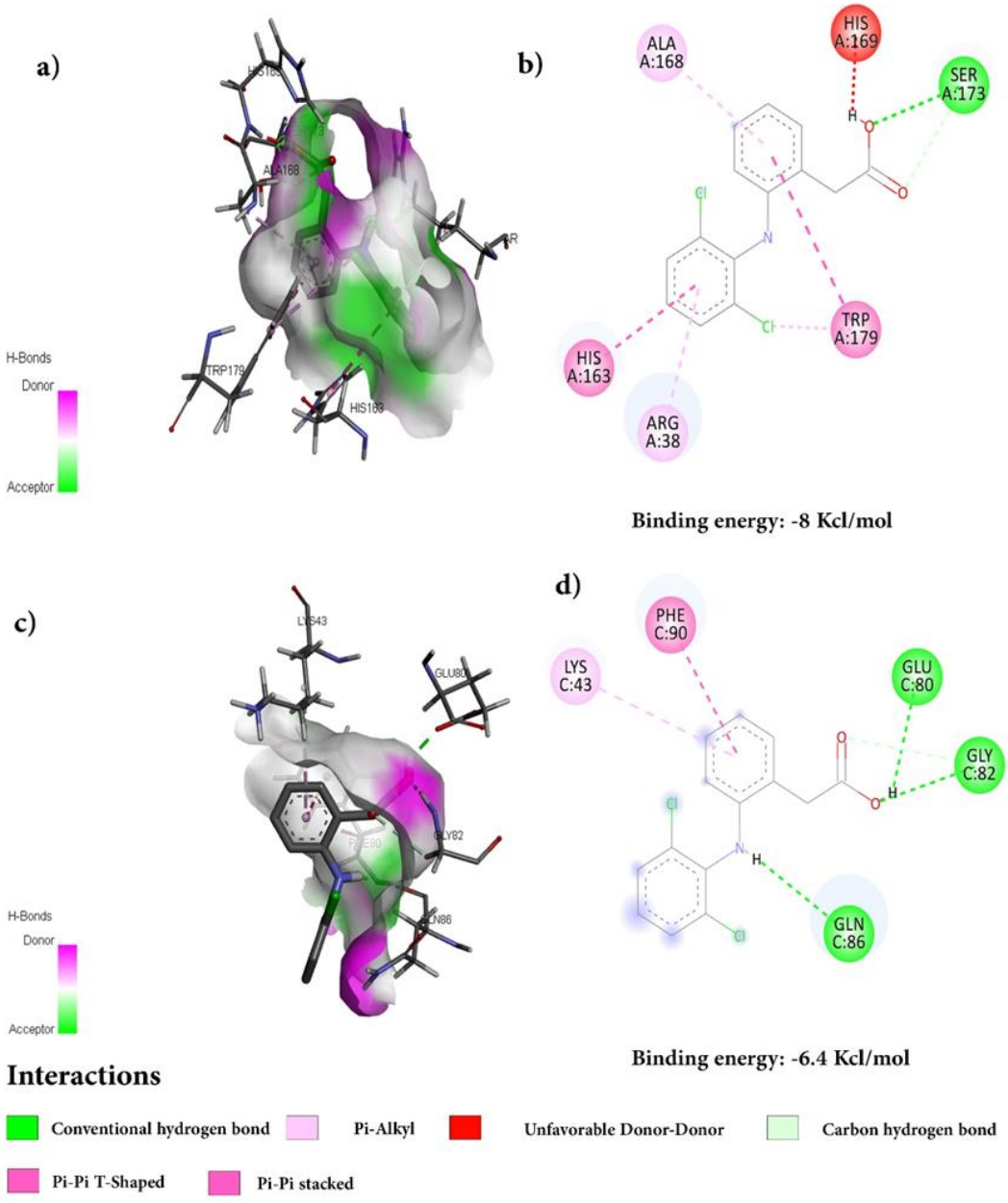



**Figure 27**: Représentation tridimensionnelles (a, c) et bidimensionnelles (b, d) de docking du diclofénac sodique avec les enzymes APX (a, b) et GPX (c, d)

De plus, la figure 28 illustre les interactions moléculaires de l'ancrage du diclofénac sodique avec les enzymes glutathion S-transférase (GST) et peroxydase (POD), représentées par des visualisations tridimensionnelles (a, c) et bidimensionnelles (b, d). Les panneaux (a) et (b) montrent l'interaction avec la GST, où le diclofénac se lie avec une énergie de liaison de -7,3 kcal/mol. La liaison est stabilisée par des liaisons hydrogène conventionnelles avec Gly102 et Ile98, une liaison pi-pi en forme de T avec Phe65 et une interaction pi-alkyle avec Val105. Les panneaux (c) et (d) illustrent l'ancrage du diclofénac avec la POD, présentant une énergie de liaison plus forte de –8 kcal/mol. Ici, la molécule forme plusieurs interactions stabilisantes, notamment des liaisons hydrogène avec Arg38, des interactions pi-pi en forme de T avec Phe41 et des contacts pi-alkyle avec Ala168, Pro139 et Leu165. Il convient de noter qu'une interaction pi-soufre est observée avec Met282, ce qui suggère une force stabilisatrice supplémentaire. Dans l'ensemble, le diclofénac sodique présente une légère augmentation affinité de liaison envers la POD par rapport à la GST, due à un réseau plus riche d'interactions hydrophobes, aromatiques et de liaisons hydrogène.

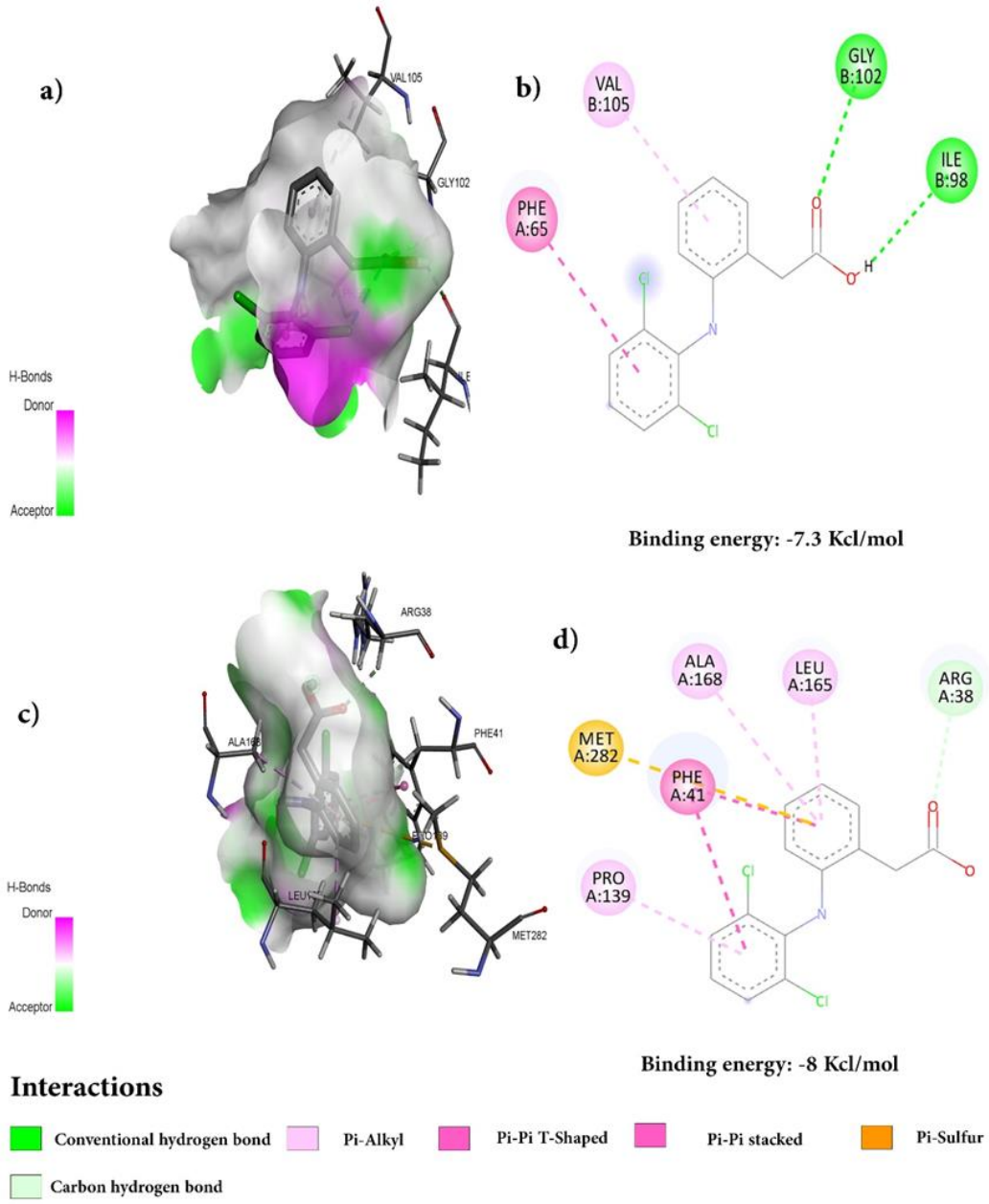



**Figure 28** : Représentations tridimensionnelles (a, c) et bidimensionnelles (b, d) de l'ancrage du diclofénac sodique avec les enzymes GST (a, b) et POD (c, d).

L'analyse d'ancrage met en évidence la capacité du diclofénac sodique à interagir fortement avec plusieurs enzymes antioxydantes, suggérant un mécanisme large par lequel il pourrait influencer la régulation du stress oxydatif. Malgré des variations dans les énergies de liaison et les types d'interaction, une tendance commune à toutes les enzymes était l'implication de liaisons hydrogène et d'interactions aromatiques comme forces stabilisatrices principales. Il est intéressant de noter que des interactions pi-soufre ont été observées uniquement dans le complexe POD, tandis que de multiples interactions pi-pi caractérisaient la liaison avec l'APX et la GST, indiquant que le diclofénac s'adapte son mode de liaison en fonction de

l'environnement du site actif de l'enzyme. La gamme relativement étroite des énergies de liaison entre l'APX, la GPX, la GST et la POD implique que le diclofénac n'a pas de préférence exclusive pour un seul système antioxydant, mais plutôt une affinité modérée à forte pour plusieurs d'entre eux, qui pourraient collectivement moduler l'équilibre redox dans les systèmes biologiques. Dans l'ensemble, les résultats suggèrent que le diclofénac sodique peut exercer des effets pléiotropiques en ciblant simultanément plusieurs composants du mécanisme de défense antioxydant.

# Chapitre 03

# Discussion

Le diclofénac, un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), est l'un des produits pharmaceutiques les plus fréquemment retrouvés dans les eaux de surface et les eaux usées. Il est largement utilisé en médecine humaine et vétérinaire, et est devenu un polluant majeur des eaux douces. Même à faibles concentrations dans les environnements aquatiques, sa persistance, sa bioaccumulation et sa toxicité chronique envers les organismes non cibles en font une préoccupation environnementale importante. Sa présence est principalement liée à sa libération sous forme non dégradée et à son élimination insuffisante par les stations d'épuration (Rani, 2024). Selon Sathishkumar et al.,(2020), le DFN exerce des effets nocifs tout au long des chaînes alimentaires, allant des organismes aquatiques jusqu'aux mammifères. Dans cette étude, nous avons exploré les effets de différentes concentrations de DFN sur *A. platensis*, en analysant la croissance, les pigments photosynthétiques , l'induction du stress oxydatif et le système antioxydant.

Selon les recherches actuelles, *A. platensis* est soumise à un stress physiologique et biochimique considérable causé par le DFN, un anti-inflammatoire non stéroïdien couramment utilisé. Bien que les cultures traitées et témoins aient initialement accumulé de la biomasse de manière similaire, une diminution significative de la croissance a été observée à partir du troisième jour, en particulier aux concentrations ≥ 40 mg. $L^{-1}$. La biomasse a fortement diminué au septième jour, ce qui indique que le DFN perturbe les processus de croissance cellulaire. Des effets inhibiteurs similaires sur la croissance dus à des contaminants pharmaceutiques ont été rapportés chez d'autres cyanobactéries et microalgues. Par exemple, Escapa et al., (2016) ont rapporté que le diclofénac avait un effet négatif sur la croissance et l'efficacité photosynthétique de *Chlorella sorokiniana* et *Chlorella vulgaris*, probablement en agissant par le biais de mécanismes liés au stress oxydatif.

L'effet cumulatif du DFN sur *A. platensis* est démontré par l'augmentation progressive de l'inhibition de la croissance observée au cours des 7 jours d'exposition. Le fait que l'inhibition soit très faible durant les deux premiers jours suggère que les cellules ont soit activé des mécanismes de défense précoces, soit toléré initialement le stress. À faible dose (20 mg. $L^{-1}$) de DFN, une légère stimulation de la croissance a été observée, ce qui suggère que *A. platensis* pourrait avoir une capacité d'adaptation à ces nouvelles conditions environnementales. Ce phénomène est connu sous le nom d'**hormèse** (stimulation à faible dose de polluant), et a également été observé chez d'autres espèces de cyanobactéries d'eau douce,

notamment *Microcystis aeruginosa* exposée à un composé pharmaceutique (la tétracycline) (Zhou et al., 2022).

Ainsi, l'inhibition du taux de croissance de *A. platensis* est directement proportionnelle à l'augmentation des concentrations de DFN, ce qui peut indiquer une altération de la viabilité cellulaire. En effet, le DFN est connu pour affecter les organismes aquatiques en induisant divers effets biochimiques capables de perturber les fonctions vitales, entraînant ainsi un déséquilibre à long terme dans l'écosystème (Rani, 2024). D'autres études ont montré que des composés pharmaceutiques tels que les antibiotiques et les AINS comme l'ibuprofène peuvent agir au niveau cellulaire en provoquant des dommages structurels et fonctionnels, entraînant une diminution de la croissance, comme observé par (Geiger et al., 2016) chez *Chlorella vulgaris*. Le DFN lui-même a également démontré des effets toxiques notables sur d'autres organismes aquatiques tels que *Daphnia* et *Desmodesmus subspicatus*. Bien qu'il ne possède pas un mécanisme spécifique clairement identifié, il peut néanmoins engendrer des dommages cellulaires complexes et préoccupants (Cleuvers, 2004b) . Par ailleurs, d'autres AINS comme le kétoprofène ont également été rapportés comme pouvant affecter le développement de divers types d'organismes aquatiques (Minguez et al., 2016; Rangasamy et al., 2018). Enfin, étant donné que les microalgues et les cyanobactéries représentent la base des chaînes alimentaires, leur exposition à de telles perturbations et dommages soulève de sérieuses préoccupations quant au bon fonctionnement global des écosystèmes aquatiques. Ainsi, cette étude fournit des informations importantes pour l'évaluation des risques environnementaux liés aux médicaments anti-inflammatoires vis-à-vis des organismes non cibles comme *A. platensis*.

Étant considéré comme un élément clé chez toutes les plantes supérieures, ainsi que chez les cyanobactéries et les microalgues photosynthétiques, la chlorophylle est un pigment essentiel qui joue un rôle fondamental à toutes les étapes de la photosynthèse : capture de la lumière, transfert d'énergie, conversion de l'énergie lumineuse (Touzout et al., 2024a; Zhang et al., 2021), ainsi que dans les réactions photosynthétiques, notamment les réactions lumineuses, le cycle de Calvin et la synthèse de l'amidon (Xiong et al., 2016). La diminution des niveaux de chlorophylles a et b avec l'augmentation des concentrations de DFN suggère une altération de l'appareil photosynthétique et une capacité réduite de capture de la lumière. Ce constat est cohérent avec les travaux de (Zhang et al., 2022) et (Abbasi et al., 2023), qui ont signalé des réductions similaires du contenu en chlorophylle chez des microalgues exposées à des contaminants pharmaceutiques, probablement en raison d'une dégradation oxydative ou

d'une inhibition de la biosynthèse des pigments. Par ailleurs, (Das et al., 2024) ont indiqué que l'exposition de *Chlorella vulgaris* et *Scenedesmus obliquus* au DFN entraine une diminution du niveau de chlorophylle, perturbant ainsi l'activité photosynthétique. Deux mécanismes principaux peuvent être à l'origine de la réduction des pigments photosynthétiques chez *A. platensis* : une diminution de la biosynthèse de la chlorophylle et/ou une augmentation de la dégradation des pigments déjà présents (Nie et al., 2008). La dégradation de la chlorophylle peut également résulter de la formation de radicaux hydroxyles durant le stress oxydatif, où la production d'ERO telles que le $H_2O_2$ et le superoxyde y contribue (Gomes et al., 2016). Cette dégradation entraînera un ralentissement de la photosynthèse et pourra affecter la croissance. Il est intéressant de noter que la teneur en caroténoïdes a augmenté, en particulier à de faibles concentrations de DFN. En neutralisant les ERO et en protégeant la chlorophylle contre les dommages photooxydatifs, les caroténoïdes sont reconnus pour remplir une double fonction dans la photosynthèse et la réduction du stress (Rezayian et al., 2019). Il est possible que l'augmentation observée des caroténoïdes à faibles concentrations de DFN constitue un mécanisme de défense contre le stress oxydatif. Toutefois, même ces mécanismes de défense semblent avoir été dépassés, comme en témoigne la diminution de l'accumulation des caroténoïdes à des concentrations plus élevées (notamment à 80 mg. $L^{-1}$), ce qui pourrait indiquer que le seuil de tolérance au stress a été franchi. Ainsi, l'exposition de *A. platensis* au DFN affecte négativement les pigments photosynthétiques, entraînant une diminution de sa capacité à réaliser la photosynthèse, et par conséquent, une réduction de la capacité de survie des cellules.

En ce qui concerne la composition macromoléculaire, la teneur en protéines a augmenté en réponse à l'exposition au DFN, probablement en raison de la synthèse de protéines liées au stress ou d'enzymes de détoxification (Touzout et al., 2023). En revanche, la diminution significative des teneurs en lipides et en glucides suggère une déplétion des réserves énergétiques ainsi que des dommages potentiels aux lipides membranaires. Une étude menée par (Jiang et al., 2023) a observé des modifications biochimiques similaires, mettant en évidence un changement dans les priorités métaboliques sous stress, à travers des altérations du profil macromoléculaire chez *A. platensis* exposée à des contaminants émergents.

L'exposition de *A. platensis* au DFN a montré des changements significatifs dans les niveaux d'$H_2O_2$ et de MDA, ce qui reflète une altération biochimique. L'exposition aux xénobiotiques peut entraîner un déséquilibre entre la capacité de l'organisme à neutraliser les

ERO ou à réparer les dommages potentiels associés ; ce phénomène est couramment désigné sous le nom de stress oxydatif (Touzout et al., 2024b). Ainsi, les niveaux accrus de $H_2O_2$ et de MDA observés dans notre étude indiquent une forte production d'ERO et une peroxydation des lipides membranaires. Ces biomarqueurs confirment le stress oxydatif intense causé par le DFN. Il est bien établi que les AINS contribuent à l'augmentation de la production d'ERO, ce qui conduit à un stress oxydatif ainsi qu'à des dommages cytotoxiques et génotoxiques (Blasco & Trombini, 2023). Le danger de l'accumulation d'ERO réside dans l'oxydation des protéines, la peroxydation des lipides et l'affectation de l'ADN, entraînant des dysfonctionnements cellulaires qui peuvent être irréversibles (Das et al., 2024). Dans cette étude, les résultats ont montré une augmentation des niveaux de $H_2O_2$ de manière dépendante de la dose avec l'augmentation des doses de DFN. L'accumulation de $H_2O_2$ joue le rôle de biomarqueur d'une production intense d'ERO après une exposition à un stress oxydatif induit par le DFN. Nous avons également observé une augmentation du niveau de MDA. Des résultats similaires ont été obtenus par (Thiagarajan et al., 2019) dans son étude sur *Chlorella vulgaris* et *Coelastrella terrestris*. Le MDA est un biomarqueur de la peroxydation des lipides et des dommages des lipides causés par les radicaux libres, reflétant des dommages cellulaires et la détérioration de la membrane cellulaire (Sharma et al., 2021). Yisa et al.,( 2023) ont observé des niveaux élevés de MDA chez *Microcystis* exposé à l'amoxicilline, reflétant une détérioration oxydative des composants cellulaires. Ainsi, l'augmentation des niveaux de $H_2O_2$ et de MDA chez *A. platensis* après une exposition au DFN signifie une grande perturbation de l'équilibre redox cellulaire et un stress oxydatif intense, mettant en évidence la sensibilité et la vulnérabilité des organismes aquatiques non ciblés aux composés pharmaceutiques comme les médicaments AINS.

Lors de l'exposition au DFN, les réponses enzymatiques antioxydantes ont montré un modèle complexe (Fig. 25). Toutes les concentrations ont montré une diminution de l'activité de la CAT, ce qui pourrait être la principale défense contre les niveaux élevés de $H_2O_2$. Nos observations démontrent que le DFN induit un stress oxydatif chez *A. platensis*, entraînant la stimulation des enzymes antioxydantes. Plus précisément, la CAT apparaît comme un acteur clé dans le contrôle du $H_2O_2$. Une activité enzymatique comparable a été observée chez *Microcystis aeruginosa*, soumise à divers stress environnementaux tels que le NCCC ou le $CuSO_4$, entraînant L'activation de la CAT (Zong et al., 2022). Ces résultats sont en accord avec ceux de (Wang et al., 2020), qui ont découvert que la capacité de *A. platensis* à résister aux agressions oxydatives était réduite en raison de la suppression des enzymes antioxydantes importantes provoquée par l'exposition aux polluants pharmaceutiques.

Dans notre étude, l'activité de l'APX a montré une réponse dépendante de la concentration au DFN, avec une stimulation modérée à faibles doses (20 mg. $L^{-1}$), indiquant une activation adaptative du système antioxydant. Cette réaction initiale peut être interprétée comme une tentative de la cellule de rétablir l'équilibre face au stress oxydatif causé par l'excès d'ERO. Une activation similaire de l'APX a été observée chez *Chlorella vulgaris* et *Scenedesmus obliquus* exposées à des substances pharmaceutiques, soulignant le rôle répandu de cette enzyme dans la protection cellulaire (Ballesteros et al., 2021). Cependant, à des concentrations plus élevées de DFN (≥40 mg. $L^{-1}$), une inhibition progressive de l'activité de l'APX est observée. Ce déclin pourrait être dû soit à l'épuisement du substrat (ascorbate), soit à des dommages directs à la structure de l'enzyme résultant d'un stress oxydatif prolongé. Ce profil en cloche est caractéristique d'une réponse enzymatique à un polluant nocif, suggérant une efficacité relative dans des conditions modérées, suivie d'un état de saturation ou d'inhibition enzymatique (Lin et al., 2012). Ces résultats diffèrent de ceux de (Majewska et al., 2021), qui n'ont observé aucun changement significatif de l'activité de l'APX chez *Chlamydomonas reinhardtii* exposée au diclofénac. Cette divergence pourrait être due à des différences spécifiques entre les espèces ou à des variations dans les conditions expérimentales. Cependant, nos résultats mettent en évidence la complexité de la réponse de l'APX au diclofénac, révélant une modulation dépendante de la concentration qui illustre le fragile équilibre entre l'activation et l'inhibition enzymatique en situation de stress oxydatif.

L'activité de la POD constitue un indicateur clé du système de défense antioxydant chez *A. platensis*, en particulier en réponse aux stress environnementaux tels que la présence de polluants émergents comme le diclofénac (Touzout et al., 2024c). Les peroxydases sont des enzymes qui catalysent la conversion du $H_2O_2$ en eau en utilisant divers donneurs d'électrons. Elles jouent ainsi un rôle crucial dans l'élimination d'ERO produites par le stress oxydatif. En l'absence de DFN, le groupe témoin (CK) présente une activité POD maximale, traduisant une activité enzymatique optimale en conditions non stressantes. Une diminution marquée de l'activité de la POD est observée à 20 mg. $L^{-1}$ de DFN, indiquant une inhibition enzymatique précoce. Ce phénomène peut être dû à l'action toxique directe du DFN à faible concentration, affectant la synthèse ou la stabilité de l'enzyme (Wang et al., 2015). Ce constat est cohérent avec certaines études montrant que des stress légers ou modérés peuvent perturber temporairement les systèmes enzymatiques avant que l'adaptation cellulaire ne se mette en place (Zhou et al., 2022). Cette réponse indique une activation adaptative du système antioxydant, où *A. platensis* cherche à contrebalancer l'excès de peroxydes produits par le stress oxydatif. En effet, les

peroxydases agissent pour décomposer le $H_2O_2$ induit par le DFN, offrant ainsi une protection aux cellules contre les dommages oxydatifs. Nos résultats soutiennent donc l'hypothèse selon laquelle la POD, en plus de son rôle traditionnel dans l'élimination d'ERO, joue également un rôle dans une voie de signalisation oxydative dépendante du $H_2O_2$, contribuant à la modulation précise de la réponse au stress induite par le DFN chez *A. platensis* (Wang et al., 2021; Xia et al., 2015). En plus de l'enzyme POD, l'activité de la GST est un marqueur crucial du système antioxydant chez les cyanobactéries, jouant un rôle clé dans la détoxification des xénobiotiques par la conjugaison du glutathion réduit (GSH) à diverses molécules électrophiles (Touzout et al., 2024a). Dans notre étude, nous avons observé une diminution significative de l'activité de la GST à une concentration de 40 mg. $L^{-1}$ de DFN (Fig. 25D), ce qui peut indiquer une inhibition enzymatique ou une déplétion des réserves intracellulaires de GSH. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par d'autres microalgues exposées à un stress chimique, où des réponses similaires d'inhibition de la GST ont été observées ( Wang et al., 2021; Zhang et al., 2021), Cela confirmant ainsi la pertinence de cette enzyme en tant que biomarqueur potentiel de la toxicité du DFN. Il est intéressant de noter qu'une légère diminution de cette baisse est observée à 60, 80 et 100 mg. $L^{-1}$, par rapport à la chute maximale enregistrée à 40 mg. $L^{-1}$ (Fig. 25D). Cette observation pourrait être attribuée à un processus d'ajustement métabolique à des concentrations élevées ou à l'activation d'autres mécanismes enzymatiques de défense (tels que la CAT ou la POD), réduisant ainsi la dépendance vis-à-vis de la GST (Zhang et al., 2022). Ces résultats sont cohérents avec les travaux de (Wang et al., 2024), qui ont rapporté des variations de l'activité de la GST chez des microalgues exposées à des anti-inflammatoires non stéroïdiens, mettant en évidence la réactivité de cette enzyme comme indicateur du stress chimique. Par ailleurs, la diminution de l'activité de la GST observée ici pourrait nuire à la régulation intracellulaire du stress oxydatif, entraînant l'accumulation de substances toxiques et affectant la croissance ainsi que la viabilité cellulaire à long terme. Par conséquent, cette recherche souligne l'effet du diclofénac sur un élément clé du système de défense antioxydant *d'A. platensis* et met en avant l'importance de la GST comme outil de biosurveillance dans les études écotoxicologiques portant sur les contaminants pharmaceutiques émergents.

De manière générale, les résultats de cette étude révèlent que le diclofénac induit un stress oxydatif, perturbe l'activité des enzymes antioxydantes et altère la composition biochimique chez *A. platensis*, entraînant une inhibition de la croissance et un déséquilibre physiologique. Ces résultats sont en accord avec les études antérieures menées sur diverses espèces d'algues et soulignent la menace écologique que représentent les produits

pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour explorer les réponses au niveau moléculaire, les effets d'une exposition chronique ainsi que les mécanismes potentiels de résilience chez les cyanobactéries.

# Conclusion et Perspective

Notre étude fournit des preuves claires des effets toxiques du DFN sur la cyanobactérie *A. platensis*. Indiquant qu'une exposition à une augmentation de la concentration de DFN a conduit à une inhibition de la croissance et à une réduction de la biomasse de manière dose-dépendante, accompagnée également d'une diminution significative du contenu en chlorophylle a et b, reflétant une altération du système photosynthétique. De plus, l'exposition à une concentration élevée de DFN a causé une altération biochimique du profil macromoléculaires et induit un stress oxydatif qui s'est reflété par l'augmentation du niveau de peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) et de malondialdéhyde (MDA), ainsi que par l'activation des enzymes antioxydantes telles que CAT, APX, POD et GST. Ce type de réponse signifie l'échec des mécanismes de défense cellulaire contre la production sévère d'ERO, qui peut causer des dysfonctionnements cellulaires pouvant être irréversibles. Ainsi, collectivement, ces résultats mettent en évidence le risque écologique lié à la présence de DFN dans les écosystèmes aquatiques contre les organismes aquatiques non ciblés tels que *A. platensis*, dont la vulnérabilité aux composés pharmaceutiques soulève des inquiétudes quant aux perturbations qui peuvent survenir aux niveaux trophiques les plus élevés, étant donné son rôle primordial dans le recyclage des nutriments et la production primaire. De futures études pourraient être d'une grande pertinence pour mieux comprendre les effets à long terme des polluants pharmaceutiques sur les écosystèmes aquatiques.

Enfin nos résultats offrent une base solide pour les recherches future, afin de mieux comprendre les effets écotoxicologiques des anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sur les organismes non cibles ainsi que sur les systèmes aquatiques en générale. Ces perspectives peuvent s'articuler autour des axes suivants :

- Établir des recherches approfondies pour Faire la lumière sur les mécanismes moléculaires et génétiques lie à la toxicité du DFN ; afin de comprendre la manière dont le DFN altéré l'expression génique, le métabolisme cellulaire et les processus photosynthétique au niveau moléculaires.
- L'application d'approches omiques intégrées (transcriptomique, protéomique, métabolomique) pour décrire de façon complète les réactions biologiques d'*A. platensis* face au stress chimique. Cela peut faciliter l'identification de nouvelles pistes métaboliques ou moléculaires touchées et la formulation d'hypothèses innovantes sur les mécanismes de défense ou les effets de toxicité.

- Evaluer le potentiel d'*A. platensis* et d'autres espèces cyanobactériennes à agir non seulement comme bioindicateur de pollution mais aussi dans la bioremédiation cela inclut l'élimination ou la dégradation des polluants pharmaceutique dans le but de rétablir la qualité de l'eau dans les écosystèmes aquatique contaminés.

# Références Bibliographiques

Abbasi, S., Amiranipour, S., Karimi, J., Mohsenzadeh, S., & Turner, A. (2023). Impacts of polyethylene microplastics on the microalga, Spirulina (Arthrospira platensis). *Environmental Pollution*, *327*, 121611. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121611

Abdel-Moneim, A. M. E., El-Saadony, M. T., Shehata, A. M., Saad, A. M., Aldhumri, S. A., Ouda, S. M., & Mesalam, N. M. (2021). Antioxidant and antimicrobial activities of Spirulina platensis extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *29*(2), 1197. https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2021.09.046

Abdelfattah, A., Ali, S. S., Ramadan, H., El-Aswar, E. I., Eltawab, R., Ho, S.-H., Elsamahy, T., Li, S., El-Sheekh, M. M., Schagerl, M., Kornaros, M., & Sun, J. (2023). Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. *Environmental Science and Ecotechnology*, *13*, 100205. https://doi.org/10.1016/j.ese.2022.100205

Adams, G. O., Fufeyin, P. T., Okoro, S. E., & Ehinomen, I. (2015). Bioremediation, biostimulation and bioaugmention: a review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, *3*(1), 28–39.

Ainas, M., Hasnaoui, S., Bouarab, R., Abdi, N., Drouiche, N., & Mameri, N. (2017). Hydrogen production with the cyanobacterium Spirulina platensis. *International Journal of Hydrogen Energy*, *42*(8), 4902–4907. https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.12.056

Ainas, M., Touzout, N., Tahraoui, H., Mokeddem, H. E., Moussa, H., Kherbouche, S., Mebrouk, S., Zhang, J., & Amrane, A. (2025). Integrated morpho-physiological and biochemical description of the mechanisms leading stress responses in cyanobacteria (Arthrospira platensis) upon exposure to Erythromycin. *Ecotoxicology*, 1–17. https://doi.org/10.1007/s10646-025-02888-7

Akhtar, N., & Mannan, M. A. ul. (2020). Mycoremediation: Expunging environmental pollutants. *Biotechnology Reports*, *26*, e00452. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00452

Ali, S. K., & Saleh, A. M. (2012). Spirulina-an overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *4*(3), 9–15.

Aouacheri, W., Saka, S., Djafer, R., & Lefranc, G. (2009). Effet protecteur du diclofenac contre le stress oxydatif induit par la toxicité du paracetamol chez le rat. *Annales de Biologie*

*Clinique*, *67*(6), 619–627. https://doi.org/10.1684/abc.2009.0376

aus der Beek, T., Weber, F. A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., & Küster, A. (2016). Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *35*(4), 823–835. https://doi.org/10.1002/etc.3339

Azubuike, C. C., Chikere, C. B., & Okpokwasili, G. C. (2016). Bioremediation techniques–classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *32*(11), 1–18. https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x

Bacanlı, M. G. (2024). The two faces of antibiotics: an overview of the effects of antibiotic residues in foodstuffs. *Archives of Toxicology*, *98*(6), 1717–1725. https://doi.org/10.1007/s00204-024-03760-z

Ballesteros, S., Domenech, J., Velázquez, A., Marcos, R., & Hernández, A. (2021). Ex vivo exposure to different types of graphene-based nanomaterials consistently alters human blood secretome. *Journal of Hazardous Materials*, *414*(January). https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125471

Barathe, P., Kaur, K., Reddy, S., Shriram, V., & Kumar, V. (2024). Antibiotic pollution and associated antimicrobial resistance in the environment. *Journal of Hazardous Materials Letters*, *5*, 100105. https://doi.org/10.1016/j.hazl.2024.100105

Barra, L., & Greco, S. (2023). The potential of microalgae in phycoremediation. In *Microalgae - Current and Potential Applications*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.1003212

Bashir, I., Lone, F. A., Bhat, R. A., Mir, S. A., Dar, Z. A., & Dar, S. A. (2020). Concerns and Threats of Contamination on Aquatic Ecosystems. In *Bioremediation and Biotechnology* (pp. 1–26). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-35691-0_1

Baylan, M., Devrim Özcan, B., Işik, O., & Akar, M. (2012). A Mini Review on Spirulina. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, *5*(1), 31–34. www.nobel.gen.tr

Bernal, J., Nozal, M. J., Jiménez, J. J., Martín, M. T., & Sanz, E. (2009). A new and simple

method to determine trace levels of sulfonamides in honey by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, *1216*(43), 7275–7280. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.05.046

Bharagava, R. N., Saxena, G., Ii, V., Agents, B., & Management, I. W. (2020). Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety. *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety*, *II*. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3426-9

Bisht, B., Hussain, A., Kumar, A., Ahmad, W., James, J., Nanda, M., Vlaskin, M. S., Verma, M., & Kumar, V. (2025). Microalgae-mediated bioremediation: Metabolomic profiling and adaptive responses under amoxicillin-induced stress. *Environmental Technology and Innovation*, *37*(September 2024), 103920. https://doi.org/10.1016/j.eti.2024.103920

Blasco, J., & Trombini, C. (2023). Ibuprofen and diclofenac in the marine environment-a critical review of their occurrence and potential risk for invertebrate species. *Water Emerging Contaminants and Nanoplastics*, *2*(3), 14. https://doi.org/10.20517/wecn.2023.06

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Brian A.Whitton, M. P. (2001). The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space (reviewed by T. Bailey Watts) . In Brian A.Whitton & Malcolm Potts (Eds.), *Diversity and Distributions* (1st ed., Vol. 7, Issue 4). Springer. https://doi.org/10.1046/j.1366-9516.2001.00118.x

Charpy, L., Langlade, M. J., & Alliod, R. (2008). *« La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? ». 167*, 1–4.

Chittora, D., Meena, M., Barupal, T., & Swapnil, P. (2020). Cyanobacteria as a source of biofertilizers for sustainable agriculture. *Biochemistry and Biophysics Reports*, *22*, 100737. https://doi.org/10.1016/J.BBREP.2020.100737

Clardy, J., Fischbach, M. A., & Currie, C. R. (2009). The natural history of antibiotics. *Current Biology*, *19*(11), R437–R441. https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.04.001

Cleuvers, M. (2004a). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen,

naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *59*(3), 309–315. https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00141-6

Cleuvers, M. (2004b). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *59*(3), 309–315. https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00141-6

Colette-Bregrand, M., James, A., Munshy, C., & Bocquene, G. (2009). Contamination des milieux aquatiques par les substances pharmaceutiques et cosmétiques Etat des lieux et perspectives. *R.Int.Dcn.Be.Arc/2009.01*, 1–44.

Council, N. R., Earth, D. on, Studies, L., Geosciences, C. on, Resources, Ecosystems, C. on R. of A., & Policy, P. (1992). *Restoration of aquatic ecosystems: science, technology, and public policy*. National Academies Press.

Cruchot, H. (2008). *La spiruline: bilan et perspectives*.

da Silva, I. G. S., de Almeida, F. C. G., da Rocha e Silva, N. M. P., Casazza, A. A., Converti, A., & Sarubbo, L. A. (2020). Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. *Energies*, *13*(18). https://doi.org/10.3390/en13184664

Das, S., Jose, S. A., Giri, S., Shah, J., Pulimi, M., Anand, S., Rai, P. K., & Mukherjee, A. (2024). Diclofenac enhances Boron nitride nanoparticle toxicity in freshwater green microalgae, Scenedesmus obliquus: Elucidating the role of oxidative stress. *Toxicology Reports*, *13*, 101696. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101696

de Ilurdoz, M. S., Sadhwani, J. J., & Reboso, J. V. (2022). Antibiotic removal processes from water & wastewater for the protection of the aquatic environment - a review. *Journal of Water Process Engineering*, *45*, 102474. https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102474

Demarco, C. F., Quadro, M. S., Selau Carlos, F., Pieniz, S., Morselli, L. B. G. A., & Andreazza, R. (2023). Bioremediation of Aquatic Environments Contaminated with Heavy Metals: A Review of Mechanisms, Solutions and Perspectives. *Sustainability*, *15*(2), 1411. https://doi.org/10.3390/su15021411

Diankristanti, P. A., & Ng, I.-S. (2024). Marine microalgae for bioremediation and waste-to-worth valorization: recent progress and future prospects. *Blue Biotechnology*, *1*(1), 10. https://doi.org/10.1186/s44315-024-00010-w

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3), 350–356. https://doi.org/10.1021/ac60111a017

Eheneden, I., Wang, R., & Zhao, J. (2023). Antibiotic removal by microalgae-bacteria consortium: Metabolic pathways and microbial responses. *Science of The Total Environment*, *891*, 164489. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164489

El-Sheekh, M. M., El-Kassas, H. Y., & Ali, S. S. (2025). Microalgae-based bioremediation of refractory pollutants: an approach towards environmental sustainability. *Microbial Cell Factories*, *24*(1), 19. https://doi.org/10.1186/s12934-024-02638-0

El-Sheekh, M. M., Farghl, A. A., Galal, H. R., & Bayoumi, H. S. (2016). Bioremediation of different types of polluted water using microalgae. *Rendiconti Lincei*, *27*(2), 401–410. https://doi.org/10.1007/s12210-015-0495-1

Escapa, C., Coimbra, R. N., Paniagua, S., García, A. I., & Otero, M. (2016). Comparative assessment of diclofenac removal from water by different microalgae strains. *Algal Research*, *18*, 127–134. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.008

Fayaz, T., Renuka, N., & Ratha, S. K. (2024). Antibiotic occurrence, environmental risks, and their removal from aquatic environments using microalgae: Advances and future perspectives. *Chemosphere*, *349*, 140822. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140822

Frigoli, M., Krupa, M. P., Hooyberghs, G., Lowdon, J. W., Cleij, T. J., Diliën, H., Eersels, K., & van Grinsven, B. (2024). Electrochemical Sensors for Antibiotic Detection: A Focused Review with a Brief Overview of Commercial Technologies. *Sensors*, *24*(17), 5576. https://doi.org/10.3390/s24175576

Fu, Q., Fedrizzi, D., Kosfeld, V., Schlechtriem, C., Ganz, V., Derrer, S., Rentsch, D., & Hollender, J. (2020). Biotransformation Changes Bioaccumulation and Toxicity of Diclofenac in Aquatic Organisms. *Environmental Science and Technology*, *54*(7), 4400–4408. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07127

Fu, Q., Xia, Z.-Z., Sun, X., Jiang, H.-L., Wang, L.-L., Ai, S., & Zhao, R.-S. (2023). Recent advance and applications of covalent organic frameworks based on magnetic solid-phase

extraction technology for food safety analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *162*, 117054. https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117054

Furbeyre, M. H. (2017). *Effets d ' une supplémentation en Spiruline et en Chlorelle sur la croissance et la santé digestive du porcelet au sevrage To cite this version : HAL Id : tel-01661454 Effets d ' une supplémentation la croissance et la santé digestive*.

Geiger, E., Hornek-Gausterer, R., & Saçan, M. T. (2016). Single and mixture toxicity of pharmaceuticals and chlorophenols to freshwater algae Chlorella vulgaris. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *129*, 189–198. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.032

Gomaa, M., Zien-Elabdeen, A., Hifney, A. F., & Adam, M. S. (2021). Phycotoxicity of antibiotics and non-steroidal anti-inflammatory drugs to green algae Chlorella sp. and Desmodesmus spinosus: Assessment of combined toxicity by Box–Behnken experimental design. *Environmental Technology and Innovation*, *23*, 101586. https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101586

Gomes, M. P., Le Manac'h, S. G., Maccario, S., Labrecque, M., Lucotte, M., & Juneau, P. (2016). Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *130*, 65–70. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.11.010

Goswami, M., Chakraborty, P., Mukherjee, K., Mitra, G., Bhattacharyya, P., Dey, S., & Tribedi, P. (2018). Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. *J Microbiol Exp*, *6*(5), 223–231.

Goulamabasse. (2018). *la spiruline: activites thérapeutiques et son interet dans la lutte contre la malnutrition a MADAGASCAR*. 2017–2018. http://pharmacie.univ-lille2.fr

Guy, L., & Pujolle, O. (2008). 2 Édition. *DUNOD, 246p*.

Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., & Hasan, M. R. (2008). *A REVIEW ON CULTURE, PRODUCTION AND USE OF SPIRULINA AS FOOD FOR HUMANS AND FEEDS FOR DOMESTIC ANIMALS AND FISH*. http://www.fao.org

Habig, W. H., & Jakoby, W. B. (1981). Assays for Differentiation of Glutathione S-Transferases. In *Methods in Enzymology* (Vol. 77, Issue C, pp. 398–405). Elsevier. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(81)77053-8

Hoffmann, H., Baldofski, S., Hoffmann, K., Flemig, S., Silva, C. P., Esteves, V. I., Emmerling, F., Panne, U., & Schneider, R. J. (2016). Structural considerations on the selectivity of an immunoassay for sulfamethoxazole. *Talanta*, *158*, 198–207. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.05.049

Hugo Aebi. (1984). Catalase in vitro. In *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 121–126). Elsevier.

Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, *51*, 72–80. https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008

Iakovidou, G., Itziou, A., Tsiotsias, A., Lakioti, E., Samaras, P., Tsanaktsidis, C., & Karayannis, V. (2024). Application of Microalgae to Wastewater Bioremediation, with CO2 Biomitigation, Health Product and Biofuel Development, and Environmental Biomonitoring. *Applied Sciences*, *14*(15), 6727. https://doi.org/10.3390/app14156727

Ilieva, Y., Zaharieva, M. M., Najdenski, H., & Kroumov, A. D. (2024). Antimicrobial Activity of Arthrospira (Former Spirulina) and Dunaliella Related to Recognized Antimicrobial Bioactive Compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(10), 5548. https://doi.org/10.3390/ijms25105548

Inga Z, & Liliana C. (2016). *Cyanobacteria for Bioremediation of Wastewaters* (I. Zinicovscaia & L. Cepoi (eds.)). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26751-7

Jiang, X., Wang, D., Wu, W., & Li, F. (2023). The different toxicological effects and removal efficiencies of norfloxacin and sulfadiazine in culturing Arthrospira (Spirulina) platensis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *250*, 114468. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114468

Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, *57*(2), 315–319.

Kardani, F., & Mirzajani, R. (2022). Electrospun polyacrylonitrile /MIL-53(Al) MOF@ SBA-15/ 4, 4′-bipyridine nanofibers for headspace solid-phase microextraction of benzene homologues in environmental water samples with GC-FID detection. *Microchemical Journal*, *180*, 107591. https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107591

Kensa, V. M. (2011). *BIOREMEDIATION - AN OVERVIEW*. *27*(2), 161–168.

Kraemer, S. A., Ramachandran, A., & Perron, G. G. (2019). Antibiotic Pollution in the Environment: From Microbial Ecology to Public Policy. *Microorganisms*, *7*(6), 180. https://doi.org/10.3390/microorganisms7060180

Kundu, P., Dutta, N., & Bhattacharya, S. (2024). Application of microalgae in wastewater treatment with special reference to emerging contaminants: a step towards sustainability. *Frontiers in Analytical Science*, *4*. https://doi.org/10.3389/frans.2024.1513153

Kuppan, N., Padman, M., Mahadeva, M., Srinivasan, S., & Devarajan, R. (2024). A comprehensive review of sustainable bioremediation techniques: Eco friendly solutions for waste and pollution management. *Waste Management Bulletin*, *2*(3), 154–171. https://doi.org/10.1016/j.wmb.2024.07.005

Lichtenthaler, H. K. (1987). *[34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes* (pp. 350–382). https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1

Lin, L., Liu, M., Luo, F., Wang, K., Zhang, Q., & Xiang, W. N. (2012). Response to authors' reply regarding "the study of urban metabolism and its applications to urban planning and design" by Kennedy et al. (2011). *Environmental Pollution*, *167*, 187. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.04.013

Liu, Y., & Yildiz, I. (2019). Bioremediation of minkery wastewater and astaxanthin production by <i>Haematococcus pluvialis</i> *International Journal of Global Warming*, *19*(1/2), 145. https://doi.org/10.1504/IJGW.2019.101778

Lonappan, L., Brar, S. K., Das, R. K., Verma, M., & Surampalli, R. Y. (2016). Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review. *Environment International*, *96*, 127–138. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.014

Luo, Y., Sun, Y., Wei, X., He, Y., Wang, H., Cui, Z., Ma, J., Liu, X., Shu, R., Lin, H., & Xu, D. (2024). Detection methods for antibiotics in wastewater: a review. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *47*(9), 1433–1451. https://doi.org/10.1007/s00449-024-03033-0

Magnano San Lio, R., Barchitta, M., Maugeri, A., La Rosa, M. C., Favara, G., & Agodi, A. (2023). Updates on developing and applying biosensors for the detection of microorganisms, antimicrobial resistance genes and antibiotics: a scoping review.

*Frontiers in Public Health*, *11*. https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1240584

Majewska, M., Harshkova, D., Pokora, W., Baścik-Remisiewicz, A., Tułodziecki, S., & Aksmann, A. (2021). Does diclofenac act like a photosynthetic herbicide on green algae? Chlamydomonas reinhardtii synchronous culture-based study with atrazine as reference. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *208*, 111630. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111630

Majhi, B. K. (2024). Cyanobacteria: Photosynthetic cell factories for biofuel production. *Journal of Bioresources and Bioproducts*. https://doi.org/10.1016/j.jobab.2024.10.001

Manet, A. (2016). *La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine*. 104.

Mathimani, T., Baldinelli, A., Rajendran, K., Prabakar, D., Matheswaran, M., Pieter van Leeuwen, R., & Pugazhendhi, A. (2019). Review on cultivation and thermochemical conversion of microalgae to fuels and chemicals: Process evaluation and knowledge gaps. *Journal of Cleaner Production*, *208*, 1053–1064. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.10.096

Mathimani, T., & Pugazhendhi, A. (2019). Utilization of algae for biofuel, bio-products and bio-remediation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *17*, 326–330. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.12.007

Mehdizadeh Allaf, M., & Peerhossaini, H. (2022). Cyanobacteria: Model Microorganisms and Beyond. *Microorganisms*, *10*(4), 696. https://doi.org/10.3390/microorganisms10040696

Miller, T. H., Bury, N. R., Owen, S. F., MacRae, J. I., & Barron, L. P. (2018). A review of the pharmaceutical exposome in aquatic fauna. *Environmental Pollution*, *239*, 129–146. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.012

Minguez, L., Pedelucq, J., Farcy, E., Ballandonne, C., Budzinski, H., & Halm-Lemeille, M. P. (2016). Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(6), 4992–5001. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3662-5

Mishra, A. K. ., Tiwari, D. N. ., & Rai, A. N. . (2019). *Cyanobacteria : From Basic Science to Applications*.

Mishra, S. K., Suh, W. I., Farooq, W., Moon, M., Shrivastav, A., Park, M. S., & Yang, J. W. (2014). Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method. *Bioresource Technology*, *155*, 330–333. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.077

Mustafa, S., Bhatti, H. N., Maqbool, M., & Iqbal, M. (2021). Microalgae biosorption, bioaccumulation and biodegradation efficiency for the remediation of wastewater and carbon dioxide mitigation: Prospects, challenges and opportunities. *Journal of Water Process Engineering*, *41*(November 2020), 102009. https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102009

Mutoti, M., Gumbo, J., & Jideani, A. I. O. (2022). Occurrence of cyanobacteria in water used for food production: A review. *Physics and Chemistry of the Earth*, *125*(December), 103101. https://doi.org/10.1016/j.pce.2021.103101

Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, *22*(5), 867–880. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232

Nguyen, T. T., Huynh, T. T. T., Nguyen, N. H., Nguyen, T. H., & Tran, P. H. (2022). Recent advances in the application of ionic liquid-modified silica gel in solid-phase extraction. *Journal of Molecular Liquids*, *368*, 120623. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.120623

Nie, X., Wang, X., Chen, J., Zitko, V., & An, T. (2008). Response of the freshwater alga Chlorella vulgaris to trichloroisocyanuric acid and ciprofloxacin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *27*(1), 168–173. https://doi.org/10.1897/07-028.1

Niti, C., Sunita, S., Kamlesh, K., & Rakesh, K. (2014). *B i o r e m e d i a t i o n : A n e m e r g i n g t e c h n o l o g y f o r r e m e d i a t i o n o f p e s t i c i d e s. April 2013*.

Nozzi, N. E., Oliver, J. W. K., & Atsumi, S. (2013). Cyanobacteria as a Platform for Biofuel Production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *1*. https://doi.org/10.3389/fbioe.2013.00007

Parolini, M., Binelli, A., Cogni, D., Riva, C., & Provini, A. (2009). An in vitro biomarker approach for the evaluation of the ecotoxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Toxicology in Vitro*, *23*(5), 935–942. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.04.014

Parsy, A., Monlau, F., Guyoneaud, R., & Sambusiti, C. (2024). Nutrient recovery in effluents from the energy sectors for microalgae and cyanobacteria biomass production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *191*, 114207. https://doi.org/10.1016/J.RSER.2023.114207

Raja Lakshmi, P., Nanjan, P., Kannan, S., & Shanmugaraju, S. (2021). Recent advances in luminescent metal–organic frameworks (LMOFs) based fluorescent sensors for antibiotics. *Coordination Chemistry Reviews*, *435*, 213793. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.213793

Rajeshwar P. Sinha. (2022). *Cyanobacteria and Their Importance* (R. P. Sinha (ed.)). Nova Science Publishers. https://doi.org/10.52305/ONRA2232

Rangasamy, B., Hemalatha, D., Shobana, C., Nataraj, B., & Ramesh, M. (2018). Developmental toxicity and biological responses of zebrafish (Danio rerio) exposed to anti-inflammatory drug ketoprofen. *Chemosphere*, *213*, 423–433. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.013

Rani, D. (2024). Biochemical impacts and environmental risks of diclofenac in aquatic ecosystems: A comprehensive review. *International Journal of Entomology Research*, *9*. www.entomologyjournals.com

Rezayian, M., Niknam, V., & Ebrahimzadeh, H. (2019). Oxidative damage and antioxidative system in algae. *Toxicology Reports*, *6*, 1309–1313. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.10.001

Russo, C., Nugnes, R., Orlo, E., di Matteo, A., De Felice, B., Montanino, C., Lavorgna, M., & Isidori, M. (2023). Diclofenac eco-geno-toxicity in freshwater algae, rotifers and crustaceans. *Environmental Pollution*, *335*, 122251. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122251

Ryzhkina, I. S., Kiseleva, Y. V., Murtazina, L. I., Kuznetsova, T. V., Zainulgabidinov, E. R., Knyazev, I. V., Petrov, A. M., Kondakov, S. E., & Konovalov, A. I. (2020). Diclofenac sodium aqueous systems at low concentrations: Interconnection between physicochemical properties and action on hydrobionts. *Journal of Environmental Sciences (China)*, *88*, 177–186. https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.08.013

Sardrood, B. P., Goltapeh, E. M., & Varma, A. (2013). *An Introduction to Bioremediation* (pp. 3–27). https://doi.org/10.1007/978-3-642-33811-3_1

Sathishkumar, P., Meena, R. A. A., Palanisami, T., Ashokkumar, V., Palvannan, T., & Gu, F. L. (2020). Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota - a review. *Science of the Total Environment*, *698*, 134057. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134057

Sguera, S. (2018). *Spirulina platensis et ses constituants : intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques Sébastien Sguera To cite this version : HAL Id : hal-01732214 soutenance et mis à disposition de l ' ensemble de la Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr*.

Shamsudin, M. S., Azha, S. F., & Ismail, S. (2022). A review of diclofenac occurrences, toxicology, and potential adsorption of clay-based materials with surfactant modifier. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *10*(3), 107541. https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107541

Sharma, J. (2019). Advantages and Limitations of In Situ Methods of Bioremediation. *Recent Advances in Biology and Medicine*, *5*, 1. https://doi.org/10.18639/rabm.2019.955923

Sharma, L., Siedlewicz, G., & Pazdro, K. (2021). The toxic effects of antibiotics on freshwater and marine photosynthetic microorganisms: State of the art. *Plants*, *10*(3), 1–15. https://doi.org/10.3390/plants10030591

Silva, A., Delerue-Matos, C., Figueiredo, S. A., & Freitas, O. M. (2019). The use of algae and fungi for removal of pharmaceuticals by bioremediation and biosorption processes: A review. *Water (Switzerland)*, *11*(8). https://doi.org/10.3390/w11081555

Singh, A. K. (2016). Nanoparticle Ecotoxicology. In *Engineered Nanoparticles* (pp. 343–450). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801406-6.00008-X

Skoutakis, V. A., Carter, C. A., Mickle, T. R., Smith, V. H., Arkin, C. R., Alissandratos, J., & Petty, D. E. (1988). Review of diclofenac and evaluation of its place in therapy as a nonsteroidal antiinflammatory agent. *Drug Intelligence and Clinical Pharmacy*, *22*(11), 850–859. https://doi.org/10.1177/106002808802201102

Spínola, M. P., Costa, M. M., & Prates, J. A. M. (2022). Digestive Constraints of Arthrospira platensis in Poultry and Swine Feeding. *Foods*, *11*(19), 2984.

https://doi.org/10.3390/foods11192984

Spínola, M. P., Mendes, A. R., & Prates, J. A. M. (2024). Chemical Composition, Bioactivities, and Applications of Spirulina (Limnospira platensis) in Food, Feed, and Medicine. *Foods*, *13*(22), 3656. https://doi.org/10.3390/foods13223656

Suseela, M. N. L., Viswanadh, M. K., Mehata, A. K., Priya, V., Vikas, Setia, A., Malik, A. K., Gokul, P., Selvin, J., & Muthu, M. S. (2023). Advances in solid-phase extraction techniques: Role of nanosorbents for the enrichment of antibiotics for analytical quantification. *Journal of Chromatography A*, *1695*, 463937. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.463937

Thiagarajan, V., Natarajan, L., Seenivasan, R., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2019). Tetracycline affects the toxicity of P25 n-TiO2 towards marine microalgae Chlorella sp. *Environmental Research*, *179*, 108808. https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108808

Thibaut Le Guet. (2017, December). *(PDF) ÉTUDE DE LA RÉACTIVITÉ DE LA MATIERE ORGANIQUE DES SÉDIMENTS : APPLICATION A LA SORPTION DE MÉDICAMENTS*.https://www.researchgate.net/publication/333566342_ETUDE_DE_LA_REACTIVITE_DE_LA_MATIERE_ORGANIQUE_DES_SEDIMENTS_APPLICATION_A_LA_SORPTION_DE_MEDICAMENTS

Touzout, N., Ainas, M., Alloti, R., Boussahoua, C., Douma, A., Hassein-Bey, A. H., Brara, Z., Tahraoui, H., Zhang, J., & Amrane, A. (2023). Unveiling the Impact of Thiophanate-Methyl on Arthrospira platensis: Growth, Photosynthetic Pigments, Biomolecules, and Detoxification Enzyme Activities. *Frontiers in Bioscience - Landmark*, *28*(10), 264. https://doi.org/10.31083/j.fbl2810264

Touzout, N., Bouchibane, M., Tahraoui, H., Mihoub, A., Zhang, J., Amrane, A., Ahmad, I., Danish, S., Alahmadi, T. A., & Ansari, M. J. (2024c). Silicon-mediated resilience: Unveiling the protective role against combined cypermethrin and hymexazol phytotoxicity in tomato seedlings. *Journal of Environmental Management*, *369*, 122370. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.122370

Touzout, N., Mihoub, A., Ahmad, I., Jamal, A., & Danish, S. (2024a). Deciphering the role of nitric oxide in mitigation of systemic fungicide induced growth inhibition and oxidative damage in wheat. *Chemosphere*, *364*, 143046.

https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143046

Touzout, N., Mihoub, A., Boukheddimi, M., Moualdia, A. O., Ahmad, I., Jamal, A., Danish, S., Alarfaj, A. A., Alharbi, S. A., & Javed Ansari, M. (2024b). Nitric oxide application alleviates fungicide and ampicillin co-exposure induced phytotoxicity by regulating antioxidant defense, detoxification system, and secondary metabolism in wheat seedlings. *Journal of Environmental Management*, *372*, 123337. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.123337

Tsarahevitra, J. (2005). *ADAPTATION DE LA SPIRULINE DU SUD DE MADAGASCAR A LA CULTURE EN EAU DE MER. MISE AU POINT DE STRUCTURES DE PRODUCTION A L'ECHELLE VILLAGEOISE*. Institut de Recherche pour le Développement.

Tyagi, I., Kumar, V., & Tyagi, K. (2024). Water pollution—sources and health implications of the environmental contaminants on the aquatic ecosystem and humans: approach toward sustainable development goals. In *Water, The Environment, and the Sustainable Development Goals* (pp. 35–66). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15354-9.00008-6

Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., & de Carvalho, C. C. C. R. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, *22*(2), 231–241. https://doi.org/10.1007/s10532-010-9394-4

Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, *151*(1), 59–66. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1

Vidali, M. (2001). *Bioremediation . An overview *. 73*(7), 1163–1172.

Wang, C. A., Onyeaka, H., Miri, T., & Soltani, F. (2024). Chlorella vulgaris as a food substitute: Applications and benefits in the food industry. *Journal of Food Science*, *October*, 8231–8247. https://doi.org/10.1111/1750-3841.17529

Wang, H., Jin, M., Mao, W., Chen, C., Fu, L., Li, Z., Du, S., & Liu, H. (2020). Photosynthetic toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on green algae Scenedesmus obliquus. *Science of the Total Environment*, *707*, 136176. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136176

Wang, Q., Liu, W., Li, X., Wang, R., & Zhai, J. (2020). Carbamazepine toxicity and its co-metabolic removal by the cyanobacteria Spirulina platensis. *Science of the Total Environment*, *706*(83), 135686. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135686

Wang, X., Cai, X., Xu, C., & Wang, Q. (2021). Identification and characterization of the NPF, NRT2 and NRT3 in spinach. *Plant Physiology and Biochemistry*, *158*(August 2020), 297–307. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.017

Wang, X. M., Yang, B., Ren, C. G., Wang, H. W., Wang, J. Y., & Dai, C. C. (2015). Involvement of abscisic acid and salicylic acid in signal cascade regulating bacterial endophyte-induced volatile oil biosynthesis in plantlets of Atractylodes lancea. *Physiologia Plantarum*, *153*(1), 30–42. https://doi.org/10.1111/ppl.12236

Webster, L. J., Villa-Gomez, D., Brown, R., Clarke, W., & Schenk, P. M. (2024). A synthetic biology approach for the treatment of pollutants with microalgae. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *12*. https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1379301

Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D., & Kuča, K. (2016). The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: an overview. *Archives of Toxicology*, *90*(8), 1817–1840. https://doi.org/10.1007/s00204-016-1744-5

Xia, X. J., Zhou, Y. H., Shi, K., Zhou, J., Foyer, C. H., & Yu, J. Q. (2015). Interplay between reactive oxygen species and hormones in the control of plant development and stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, *66*(10), 2839–2856. https://doi.org/10.1093/jxb/erv089

Xiong, J. Q., Kurade, M. B., Abou-Shanab, R. A. I., Ji, M. K., Choi, J., Kim, J. O., & Jeon, B. H. (2016). Biodegradation of carbamazepine using freshwater microalgae Chlamydomonas mexicana and Scenedesmus obliquus and the determination of its metabolic fate. *Bioresource Technology*, *205*, 183–190. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.038

Xu, M., Li, J., Chang, Q., Zang, X., Zhang, S., Wang, C., & Wang, Z. (2023). Molecularly imprinted conjugated microporous polymer composite as solid phase extraction adsorbent for the extraction of phenolic endocrine disrupting chemicals in beverages. *Microchemical Journal*, *191*, 108752. https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.108752

Yang, W., Gao, X., Wu, Y., Wan, L., Tan, L., Yuan, S., Ding, H., & Zhang, W. (2020). The combined toxicity influence of microplastics and nonylphenol on microalgae Chlorella pyrenoidosa. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *195*(January), 110484. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110484

Yisa, A. G., Chia, M. A., Sha'aba, R. I., Gauje, B., Gadzama, I. M. K., & Oniye, S. J. (2023). Risk assessment of the antibiotic amoxicillin on non-toxin-producing strains and toxin-producing strains of Microcystis. *Environmental Science and Pollution Research*, *30*(19), 56398–56409. https://doi.org/10.1007/s11356-023-26403-9

Zada, S., Lu, H., Khan, S., Iqbal, A., Ahmad, A., Ahmad, A., Ali, H., Fu, P., Dong, H., & Zhang, X. (2021). Biosorption of iron ions through microalgae from wastewater and soil: Optimization and comparative study. *Chemosphere*, *265*, 129172. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129172

Zeng, Y., Chang, F., Liu, Q., Duan, L., Li, D., & Zhang, H. (2022). Recent Advances and Perspectives on the Sources and Detection of Antibiotics in Aquatic Environments. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, *2022*, 1–14. https://doi.org/10.1155/2022/5091181

Zhang, Y., He, D., Bu, Z., Li, Y., Guo, J., & Li, Q. (2022). The transcriptomic analysis revealed sulfamethoxazole stress at environmentally relevant concentration on the mechanisms of toxicity of cyanobacteria Synechococcus sp. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *10*(3). https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107637

Zhang, Y., He, D., Chang, F., Dang, C., & Fu, J. (2021). Combined effects of sulfamethoxazole and erythromycin on a freshwater microalga, raphidocelis subcapitata: Toxicity and oxidative stress. *Antibiotics*, *10*(5), 576. https://doi.org/10.3390/antibiotics10050576

Zhang, Y., Li, M., Chang, F., Yi, M., Ge, H., Fu, J., & Dang, C. (2023). The distinct resistance mechanisms of cyanobacteria and green algae to sulfamethoxazole and its implications for environmental risk assessment. *Science of the Total Environment*, *854*, 158723. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158723

Zhang, Z., Zhang, H., Tian, D., Phan, A., Seididamyeh, M., Alanazi, M., Ping Xu, Z., Sultanbawa, Y., & Zhang, R. (2024). Luminescent sensors for residual antibiotics detection in food: Recent advances and perspectives. *Coordination Chemistry Reviews*,

*498*(October 2023), 215455. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215455

Zhou, D., Meng, R., Xiao, P., Chang, T., Li, Y., Han, J., Cheng, P., Zhou, C., & Yan, X. (2022). Frequent antibiotic exposure stabilized the associated bacterial community while altering physiological and biochemical characteristics of the coccolithophore Chrysotila roscoffensis. *Algal Research*, *67*(July), 102807. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102807

Zhou, X., Jiang, X., Chen, J., & Gao, P. (2022). Interspecific competition between Microcystis aeruginosa and Chlamydomonas microsphaera stressed by tetracyclines. In *Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 29, Issue 55, pp. 83262–83272). https://doi.org/10.1007/s11356-022-21537-8

Zhu, L., Lin, X., Di, Z., Cheng, F., & Xu, J. (2024). Occurrence, Risks, and Removal Methods of Antibiotics in Urban Wastewater Treatment Systems: A Review. *Water*, *16*(23), 3428. https://doi.org/10.3390/w16233428

Zong, P., Liu, Y., Chen, H., Miao, S., Lian, K., Li, C., Zhang, H., & Zhang, M. (2022). Inhibitory mechanism of nano-copper carbon composite on Microcystis aeruginosa. *Algal Research*, *68*(September), 102877. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102877

**الملخص**

إن التزايد المستمر في وجود الملوّثات الدوائية، مثل الديكلوفيناك، في البيئات المائية يُشكل خطراً بيئياً كبيراً. ومع ذلك، فإن سميّتها تجاه الطحالب الدقيقة لا تزال غير مفهومة بشكل كافٍ. تناولت هذه الدراسة تأثير الديكلوفيناك (بتركيزات من 0 إلى 100 ملغ/لتر) على السيانوبكتيريا العذبة *السبيرولينا* لمدة 7 أيام. وقد أظهرت النتائج أن تكوّن الكتلة الحيوية كان مثبطًا بشكل متزايد تبعًا للوقت والتركيز، مع تسجيل أقوى تأثير عند أعلى جرعة (100 ملغ/لتر). تسبب التعرض للديكلوفيناك في حدوث إجهاد تأكسدي، حيث ارتفعت مستويات بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$) والمالون دي ألدهيد .(MDA) بالإضافة إلى ذلك، لوحظ انخفاض كبير في نشاط إنزيمات مضادات الأكسدة والتخلص من السموم، وهي: الكاتالاز(CAT) ، وأسكوربات بيروكسيداز(APX) ، وبيروكسيداز(POD) ، وإنزيم غلوتاثيون إس-ترانسفيراز .(GST) كما تأثر تركيب الأصباغ بانخفاض محتوى الكلوروفيل a بنسبة 39٪، إلى جانب انخفاض ملحوظ في محتوى الدهون والكربوهيدرات. تسلط هذه النتائج الضوء على الخطر السمي البيئي للديكلوفيناك على الحياة المائية، وتؤكد على ضرورة إجراء أبحاث لفهم الأسس الجزيئية لهذه الاستجابات. وتساهم هذه الدراسة في تعزيز الفهم لتأثير التلوث الدوائي على البيئة، وتعدّ أساسًا لتقييمات مستقبلية للمخاطر البيئية.

**الكلمات المفتاحية:** السبيرولينا، *المعالجة* الحيوية، ديكلوفيناك، الخطر الإيكوتوكسيلوجي، الملوثات الناشئة

**Résumé**

La présence croissante de polluants pharmaceutiques, tels que le diclofénac (DFN), dans les milieux aquatiques représente un risque écologique important. Cependant, leur toxicité envers les microalgues reste encore mal comprise. Cette étude a examiné l'influence du DFN (0 à 100 mg. $L^{-1}$) sur la cyanobactérie d'eau douce *Arthrospira platensis* pendant 7 jours. Les résultats ont révélé que la formation de biomasse était de plus en plus inhibée de manière dépendante du temps et de la dose, avec un effet maximal observé à la dose la plus élevée (100 mg. $L^{-1}$). L'exposition au DFN a induit un stress oxydatif, avec une augmentation des niveaux de peroxyde d'hydrogène ($H_2O_2$) et de malondialdéhyde (MDA). De plus, une diminution considérable de l'activité des enzymes antioxydantes et de détoxification a été observée, notamment la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APX), la peroxydase (POD) et la glutathion S-transférase (GST). La composition en pigments a été affectée, avec une diminution de 39 % de la teneur en chlorophylle a, ainsi qu'une réduction notable des teneurs en lipides et en glucides. Ces résultats soulignent le danger écotoxicologiques du DFN pour la vie aquatique et confirment la nécessité de recherches sur les bases moléculaires de ces réponses. Ce travail contribue à une meilleure compréhension de l'impact environnemental de la pollution pharmaceutique et constitue une base pour de futures évaluations du risque écotoxicologiques.

***Mots-clés*** : *Arthrospira platensis*, bioremédiation, diclofénac, risque écotoxicologiques, polluants émergents

**Abstract**

The increasing presence of pharmaceutical pollutants, such as diclofenac (DFN), in aquatic environments poses significant ecological risks. However, their toxicity to microalgae remains poorly understood. The study examined the influence of DFN (0-100 mg. L-1) on the freshwater cyanobacterium *Arthrospira platensis* for 7 days. The outcome revealed that biomass formation was increasingly suppressed in a time and dose dependent manner with maximum effects observed at higher doses (100 mg. L-1). DFN exposure caused oxidative stress, with enhanced levels of hydrogen peroxide ($H_2O_2$) and malondialdehyde (MDA) levels. Besides, there was a considerable reduction in the level of antioxydant and detoxification enzyme activities, namely catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POD) and glutathion S-transferase (GST). composition of pigments was affected by a 39% decrease in chlorophyll a content as well as conspicuous reduction in lipids and carbohydrate content. These results highlight the ecotoxicological hazard of DFN to aquatic life and affirm the necessity of research on the molecular basis for these responses. This work adds to improved comprehension of pharmaceutical pollution's environmental impact and serves a basis for future ecotoxicological risk assessment.

***Keywords***: *Arthrospira platensis*, bioremediation, diclofenac, Ecotoxicological risk, Emerging contaminants.