

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

①① N° de publication : **3 051 802**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)
②① N° d'enregistrement national : **16 54913**

⑤① Int Cl⁸ : **C 12 N 1/20** (2017.01), A 62 D 3/02, B 09 C 1/10,
C 02 F 3/34

⑫ **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION** **A1**

②② Date de dépôt : 31.05.16.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 01.12.17 Bulletin 17/48.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥③ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

☐ Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATO-
MIQUE ET AUX ENERGIES ALTERNATIVES Etablis-
sment public — FR.

⑦② Inventeur(s) : CHAUSSONNERIE SEBASTIEN,
FONKNECHTEN NURIA, LE PASLIER DENIS, SAAIDI
PIERRE LOIC et UGARTE EDGARDO.

⑦③ Titulaire(s) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATO-
MIQUE ET AUX ENERGIES ALTERNATIVES Etablis-
sment public.

⑦④ Mandataire(s) : CABINET BECKER ET ASSOCIES.

⑤④ **UTILISATION D'UNE BACTERIE DU GENRE CITROBACTER POUR INDUIRE LA DEGRADATION DE LA
CHLORDECONE.**

⑤⑦ La présente invention concerne l'utilisation d'une bac-
térie du genre Citrobacter pour induire la dégradation de la
chlordécone.

FR 3 051 802 - A1



La présente invention relève du domaine de la microbiologie, et plus particulièrement de la dégradation d'un pesticide organochloré par des bactéries.

ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE DE L'INVENTION

Les composés organochlorés sont des composés organiques de synthèse, massivement produits par l'Homme et dispersés dans l'environnement, l'eau, l'air, et les sols. Compte-tenu de leur utilisation massive, ils sont devenus d'importants contaminants des écosystèmes et du réseau trophique. On les retrouve en particulier très concentrés par les animaux situés en tête de chaîne alimentaire et parfois même chez l'homme.

Ces composés organochlorés posent un double problème. D'une part ils sont extrêmement stables (pas ou peu biodégradables) et ne se décomposent pas avant des décennies, voire dans certains cas, des siècles. La plupart sont ainsi classés dans les « polluants organiques persistants ». D'autre part, ils peuvent également être cancérogènes, mutagènes, des perturbateurs endocriniens et/ou reprotoxiques. Ainsi, des produits accumulés dans les sols ou les sédiments peuvent être mobilisés par les vers de terre, d'autres animaux fouisseurs, la volaille ou les porcs et sangliers et contaminer l'alimentation humaine en causant par exemple des cancers tels que les myélomes multiples à la Martinique.

Les composés organochlorés sont pour la plupart toxiques à très toxiques ou écotoxiques. Ils sont bioaccumulables et sont facilement stockés dans les graisses. De plus, pour la plupart, ils franchissent facilement les muqueuses pulmonaires, intestinales et les barrières cutanées ou placentaires.

La chlordécone est un insecticide organochloré considéré comme un polluant organique persistant (POP, ajouté à la liste de la convention de Stockholm en mai 2009). De fortes suspicions de toxicité, alliées à cette persistance, l'ont fait interdire dans de nombreux pays dès 1976 (en particulier aux États-Unis, suite à un incident dans la chaîne de production d'une usine). Il a cependant été utilisé dans les Antilles françaises jusqu'en 1993. L'AFSSA rapporte que des ouvriers exposés de manière chronique à ce produit dans une usine en produisant aux États-Unis ont été victimes de problèmes neurologiques : irritabilité, tremblements, troubles de la vision, céphalées. Des effets toxiques sur le foie ont été observés, ainsi qu'une action de délétion de la spermatogenèse (rapport de septembre 2007 : la chlordécone en Martinique et Guadeloupe).

Une élévation significative du risque de cancer de la prostate a également été récemment trouvée chez les hommes (de Guadeloupe, Martinique, Haïti et Dominique) ayant été, selon des analyses de sang faites entre 2004 et 2007, très exposés à la chlordécone : ceux ayant le taux sanguin le plus élevé avaient un risque plus de 2,5 fois plus élevé que les moins exposés. Dans les Antilles françaises, des taux sanguins de plus de 1 microgramme par litre ($\mu\text{g/L}$) sont trouvés chez plus de 20 % de la population étudiée (Multigner L et al, *Journal of Clinical Oncology*, June 21, 2010: doi:10.1200/JCO.2009.27.2153). De plus, en Martinique, une analyse du risque de cancer (par zones) commandée par l'Institut de Veille Sanitaire a conclu à une « surincidence statistiquement significative du myélome multiple » (Dieye M. et al, Étude disponible sur le site de l'Institut de Veille sanitaire) en Martinique chez l'homme adulte résidant dans la zone où la chlordécone a été le plus utilisé et serait encore le plus présent dans les sols (selon le Bureau de recherches géologiques et minières). Des observations montrent qu'une exposition à la chlordécone chez la femme enceinte contribue à une augmentation du risque de prématurité. Par ailleurs, la molécule pouvant passer dans le lait maternel, elle peut engendrer des retards de développement chez l'enfant (Multigner L. et al., *Environ Sci Pollut Res*, 2016, 23:3–8).

A l'heure actuelle, plusieurs pistes de remédiation de la pollution à la chlordécone ont été explorées mais aucune n'a donné entière satisfaction. Ainsi, Belghit et al ont développé une méthode de dégradation de la chlordécone basée sur l'utilisation de fer zéro valent (Belghit H et al, 2014, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 95 (2) :93-105). Cependant, cette méthode à l'inconvénient majeur d'utiliser une quantité importante de fer zéro valent qui représente un risque potentiel pour l'environnement, les composés de dégradation obtenus, des polyhydrochlordécones, n'ayant pas été étudiés d'un point de vue éco-/toxicité et biodégradabilité. Un procédé chimique alternatif, développé uniquement en laboratoire, a l'inconvénient de requérir une grande quantité de Vitamine B12 qui contient du cobalt et représente ainsi également un risque important pour l'environnement (Schrauzer C et al, 1978, *Bioinorganic Chemistry*, 9 : 123-143). D'autres procédés consistant à utiliser des bactéries pour dégrader la chlordécone ont également été testés. Cependant, les métabolites produits par ces procédés étaient limités à une monohydro- et à une dihydro-chlordécone, potentiellement éco-/toxiques eux aussi, et les espèces microbiennes responsables de ces dégradations n'ont pas été clairement identifiées (Orndorff SA et al, 1980, *Applied and Environmental Microbiology*, 39 (2) : 398-406; George SE et al, 1988, *Xenobiotica*, 18(4) : 407-16).

A ce jour, il est donc encore nécessaire de mettre au point un procédé de dégradation de la chlordécone, qui puisse dégrader efficacement la chlordécone sans représenter de risque pour l'environnement.

RESUME DE L'INVENTION

L'objectif de la présente invention est de proposer une nouvelle utilisation de bactéries du genre *Citrobacter* pour dégrader efficacement la chlordécone tout en évitant les inconvénients de l'art antérieur. Les inventeurs ont ainsi découvert que deux nouvelles souches de bactéries appartenant au genre *Citrobacter*, ainsi que deux autres bactéries commerciales du même genre, sont capables d'induire la dégradation de la chlordécone en conditions anaérobie. Le principal produit de cette dégradation détecté en GC-MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse) est un métabolite ayant perdu cinq atomes de chlore et la fonction carbonyle, c'est un pentachloroindène ($C_9Cl_5H_3$) noté B1.

Ainsi, selon un premier aspect, la présente invention concerne l'utilisation d'une bactérie du genre *Citrobacter* pour induire la dégradation de la chlordécone.

De préférence, la bactérie du genre *Citrobacter* comprend un ARN 16S ayant au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, de manière encore préférée au moins 97%, d'identité avec l'un quelconque des ARN 16S sélectionnés dans le groupe constitué par l'ARN 16S de SEQ ID N°1 de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, l'ARN 16S de SEQ ID N°2 de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, l'ARN 16S de SEQ ID N°3 de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et l'ARN 16S de SEQ ID N°4 de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

De manière encore préférée, la bactérie du genre *Citrobacter* comprend un ARN 16S ayant 100 % d'identité avec l'un quelconque des ARN 16S sélectionnés dans le groupe constitué par l'ARN 16S de SEQ ID N°1 de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, l'ARN 16S de SEQ ID N°2 de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, l'ARN 16S de SEQ ID N°3 de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et l'ARN 16S de SEQ ID N°4 de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

Dans un mode de réalisation préféré, la bactérie est une *Citrobacter amalonaticus*.

De manière tout particulièrement préférée, la bactérie du genre *Citrobacter* est sélectionnée dans le groupe constitué de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, de

la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5099 et de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5100.

La bactérie selon l'invention peut être capable d'induire une dégradation de la chlordécone, de préférence par l'élimination d'au moins un, de préférence d'au moins deux, de manière encore préférée d'au moins trois, de manière toujours préférée d'au moins quatre, et de manière tout particulièrement préférée d'au moins cinq, atomes de chlore.

Dans un mode de réalisation particulièrement préféré, la bactérie est utilisée en condition anaérobie.

La bactérie peut être comprise dans une composition comprenant d'autres bactéries. La bactérie selon l'invention peut être utilisée dans le traitement de sols, d'eaux, de boues, de mangroves, de sédiments, et/ou de charbons actifs contaminés par la chlordécone.

Dans un deuxième aspect, l'invention concerne aussi une composition comprenant une bactérie sélectionnée dans le groupe constitué de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5099, de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5100 et d'un mélange de celles-ci.

Dans un troisième aspect, l'invention concerne également un procédé de traitement de sols et/ou d'eaux, de boues, de mangroves, de sédiments, et/ou de charbons actifs (contaminés par la chlordécone, dans lequel ledit procédé comprend la mise en contact de sol et/ou d'eau avec une bactérie selon l'invention, ou une composition selon l'invention, dans des conditions permettant l'induction de la dégradation de la chlordécone par ladite bactérie ou ladite composition.

Dans un quatrième aspect, l'invention concerne encore un dispositif pour mettre en œuvre le procédé de l'invention, dans lequel le dispositif comprend des moyens pour réaliser la mise en contact du sol et/ou eaux avec une bactérie selon l'invention ou avec une composition selon l'invention.

Dans un cinquième aspect, l'invention concerne un kit de traitement de sols et/ou d'eaux contaminés par la chlordécone, dans lequel ledit kit comprend :

- des moyens pour réaliser la mise en contact avec le sol et ou les eaux d'une bactérie selon l'invention, ou d'une composition selon l'invention ; et
- au moins une bactérie selon l'invention, et/ou une composition selon l'invention ; et optionnellement
- un milieu de culture des bactéries ; et/ou

- un manuel d'instructions expliquant l'utilisation du kit.

Dans un sixième aspect, l'invention concerne enfin une bactérie du genre *Citrobacter* sélectionnée dans le groupe constitué des souches Citrobacter-86-1 et Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter* et déposées à la CNCM sous les références I-5099 et I-5100, respectivement.

BREVE DESCRIPTION DES DESSINS

Figure 1 : Suivi par chromatographie en phase gazeuse de la dégradation de la chlordécone avec apparition du pentachloroindène B1 dans le milieu de culture de bactéries appartenant au genre *Citrobacter*.

A : Chromatogramme réalisé à partir d'un prélèvement de milieu de culture au premier jour (J0) de l'incubation des bactéries avec de la chlordécone (CLD, 50 µg/ml). B : Chromatogramme réalisé à partir d'un prélèvement de milieu de culture de bactéries de la souche Citrobacter-86-1 après 161 jours (J161) d'incubation avec de la chlordécone (concentration initiale de 50 µg/ml). C : Chromatogramme réalisé à partir d'un prélèvement de milieu de culture de bactéries de la souche Citrobacter-92-1 après 161 jours (J161) d'incubation avec de la chlordécone (concentration initiale de 50 µg/ml). D : Chromatogramme réalisé à partir d'un prélèvement de milieu de culture de bactéries de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus* après 161 jours (J161) d'incubation avec de la chlordécone (concentration initiale de 50 µg/ml). E : Chromatogramme réalisé à partir d'un prélèvement de milieu de culture de bactéries de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii* après 161 jours ((J161) d'incubation avec de la chlordécone (concentration initiale de 50 µg/ml).

Figure 2 : Suivi au cours du temps de la dégradation de la chlordécone avec apparition du pentachloroindène B1 dans le milieu de culture de bactéries incubées avec de la chlordécone (concentration initiale de 50 µg/ml).

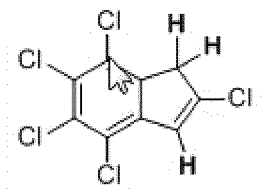
Ce graphique représente l'évolution du rapport des aires des pics de pentachloroindène B1 et de la chlordécone (en ordonnées) au cours du temps (en abscisses, exprimé en jours).

A : Suivi la dégradation de la chlordécone avec apparition du pentachloroindène B1 dans le milieu de culture de bactéries appartenant aux souches Citrobacter-86-1, Citrobacter 92-1, DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus* et DSM30039 de *Citrobacter freundii*. B :

Agrandissement de la Figure 2A pour la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii* uniquement.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

Les inventeurs ont découvert de façon surprenante qu'il était possible d'utiliser des bactéries appartenant au genre *Citrobacter* pour dégrader efficacement la chlordécone. Les inventeurs ont ainsi mis en évidence que deux nouvelles souches de bactéries appartenant au genre *Citrobacter* ainsi que deux autres bactéries commerciales du même genre, sont capables d'induire la dégradation, en conditions anaérobie, de la Chlordécone en métabolites ayant perdu au moins 5 atomes de chlore, en particulier le pentachloroindène ($C_9Cl_5H_3$) B1 dont la formule développée est présentée ci-dessous



Ainsi, la présente invention concerne, dans un premier aspect, l'utilisation d'une bactérie du genre *Citrobacter* pour induire la dégradation de la chlordécone.

Définitions

Tel qu'utilisé ici, le terme « composé organochloré » se réfère à un composé organique de synthèse, comportant au moins un atome de chlore. Ils sont en général obtenus par chloration de différents hydrocarbures insaturés. Les composés organochlorés peuvent être des solvants, des pesticides, des réfrigérants, des dioxines ou des molécules intermédiaires de synthèse en chimie et pharmacie.

Tel qu'utilisé ici, le terme « contaminant » se réfère à une substance décelée dans un lieu où elle ne se trouve pas normalement.

Tel qu'utilisé ici, le terme « réseau trophique » se réfère à un ensemble de chaînes alimentaires reliées entre elles au sein d'un écosystème et par lesquelles l'énergie et la biomasse circulent.

Tel qu'utilisé ici, le terme « chaîne alimentaire » se réfère à une suite de relations alimentaires existant entre les êtres vivants. La chaîne alimentaire décrit l'ordre dans lequel les êtres vivants se nourrissent en se mangeant les uns les autres.

Tel qu'utilisé ici, le terme « toxique » se réfère à la capacité d'un composé à provoquer des effets néfastes et mauvais pour la santé ou la survie chez toute forme de vie, en particulier chez l'homme.

Tel qu'utilisé ici, le terme « cancérogène » se réfère à un composé provoquant, aggravant ou sensibilisant l'apparition d'un cancer.

Tel qu'utilisé ici, le terme « mutagène » se réfère à un composé qui change le génome (en général l'ADN) d'un organisme et élève ainsi le nombre de mutations génétiques au-dessus du taux naturel d'arrière-plan.

Tel qu'utilisé ici, le terme « reprotoxique » se réfère à un composé toxique pour la reproduction.

Tel qu'utilisé ici, le terme « perturbateur endocrinien » se réfère à un composé ayant des propriétés hormono-mimétiques et décrit comme cause d'anomalies physiologiques et de reproduction.

Le terme « polluant organique persistant », tel qu'utilisé ici, se réfère à un composé qui résiste aux dégradations biologiques naturelles et présente une bioaccumulation, c'est-à-dire que lorsqu'il est inhalé ou ingéré, il s'accumule dans les tissus vivants.

Le terme « biodégradable », tel qu'utilisé ici, se réfère à un composé pouvant être décomposé (digéré) naturellement par des organismes vivants (en particulier les micro-organismes). La biodégradabilité est un des paramètres les plus importants pour caractériser l'impact environnemental d'un produit organique.

Tel qu'utilisé ici, le terme de « pesticide » se réfère à un composé utilisé pour lutter contre des organismes considérés comme nuisibles. Le groupe des pesticides comprend les insecticides, les fongicides, les herbicides et les parasitocides qui s'attaquent respectivement aux insectes ravageurs, aux champignons, aux « mauvaises herbes » et aux vers parasites.

Tel qu'utilisé ici, le terme « ARN 16S » se réfère à la séquence génomique codant pour l'ARN ribosomique constituant la petite sous-unité des ribosomes des bactéries.

Le terme « bactérie anaérobie stricte », tel qu'utilisé ici, se réfère à des bactéries des bactéries incapables de se multiplier en présence d'oxygène moléculaire.

Le terme « bactérie anaérobie facultative », tel qu'utilisé ici, se réfère à des bactéries capables de se multiplier en présence (milieu aérobie) ou en l'absence d'Oxygène moléculaire (O₂, milieu anaérobie).

Tel qu'utilisé ici, le terme « dégradation » se réfère à la décomposition de composés organochlorés en éléments plus simples, c'est-à-dire comportant moins d'atomes que le composé organochloré de départ. En particulier, la dégradation d'un composé organochloré peut consister en l'obtention de composés ayant perdu un ou plusieurs atomes de chlore.

Tel qu'utilisé ici, le terme « métaboliser » se réfère à l'ensemble des réactions chimiques de dégradation de composés organochlorés par des bactéries qui leur permettent, directement ou indirectement, de produire de l'énergie.

Tel qu'utilisé ici, le terme de « sol » se réfère à l'interface entre biosphère et lithosphère, il est le support de la vie terrestre. Le sol résulte de la transformation de la couche superficielle de la roche-mère, la croûte terrestre, dégradée et enrichie en apports organiques par les processus vivants. La partie du sol spécialement riche en matière organique se nomme l'humus.

Tel qu'utilisé ici, le terme « andisol » ou « andosol » se réfère à un sol humique peu évolué de montagne comportant un horizon supérieur riche en matière organique et une roche-mère d'origine volcanique.

Tel qu'utilisé ici, le terme « ferralsol » ou « oxisol » se réfère à un sol très évolué, à kaolinite, ne renfermant pas de minéraux altérables en quantité significative, à faible teneur en cations, et sans horizon argilique. Ils sont de couleurs rouges ou jaunes en raison de l'accumulation d'oxydes de métaux, en particulier de fer et d'aluminium.

Tel qu'utilisé ici, le terme « nitisol » se réfère un sol profond, rouge, bien drainé, comprenant au moins 30 % d'argile et de structure compacte. Ils comprennent de la kaolinite, de l'halloysite et des oxydes de fer.

Tel qu'utilisé ici, le terme « mangrove » se réfère à un écosystème de marais maritime incluant un groupement de végétaux spécifiques principalement ligneux, ne se développant que dans la zone de balancement des marées appelée estran des côtes basses des régions tropicales.

Tel qu'utilisé ici, le terme « sédiment » se réfère à un ensemble de particules en suspension dans l'eau, l'atmosphère ou la glace et qui a fini par se déposer sous l'effet de la gravité, souvent en couches ou strates successives.

Tel qu'utilisé ici, le terme « boue » se réfère à un mélange d'eau et de particules sédimentaires fines de limons et d'argiles, en particulier des boues de stations d'épurations.

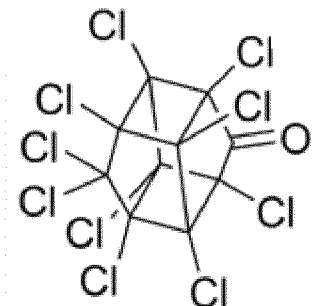
Tel qu'utilisé ici, le terme « charbon actif » se réfère à tout charbon ayant subi une préparation particulière et qui, de ce fait, possède à un haut degré la propriété de fixer et de retenir les fluides amenés à son contact. Il s'agit d'une structure amorphe composée principalement d'atomes de carbone, généralement obtenue après une étape de carbonisation à haute température, présentant une très grande surface spécifique qui lui confère un fort pouvoir adsorbant. Pour déterminer le pourcentage d'identité de séquence d'un premier acide nucléique (A) avec un second acide nucléique (B), il est nécessaire d'effectuer, au préalable, l'alignement de leurs séquences respectives. L'alignement de séquence peut être effectué par des méthodes bien connues de l'homme du métier, par exemple, à l'aide de l'algorithme d'alignement global de Needleman-Wunsch en prenant en compte les éventuels " gaps " (c'est-à-dire les éventuelles délétions et insertions contenues dans la séquence de l'acide nucléique (A) par rapport à la séquence de l'acide nucléique (B)) et la longueur entière des acides nucléiques (A) et (B) à aligner. On peut, par exemple, utiliser l'outil d'alignement " EMBOSS Pairwise Alignment Algorithms (nucleotide)" disponible notamment sur le site internet de l'EMBL-EBI consultable à l'adresse suivante : www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/align/. Les paramètres à fixer pour réaliser l'alignement avec cet outil peuvent être les suivants : (i) Method : EMBOSS :Needle (global) ; (ii) Gap extend : 0,5 ; (iii) Gap open : 10 ; (iv) Molecule : DNA ; (v) Matrix : DNAsfull. Une fois l'alignement global effectué, le pourcentage d'identité de séquence peut être obtenu en divisant (i) le nombre total de nucléotides identiques alignés par (ii) le nombre total de nucléotides contenus dans l'acide nucléique le plus long parmi l'acide nucléique (A) et l'acide nucléique (B) puis en multipliant par 100 le quotient obtenu.

La chlordécone

L'invention concerne la dégradation de la chlordécone par des bactéries du genre *Citrobacter*.

Les termes « chlordécone », « Képone® », « Curlone® », « GC-1189® » et « décachlorocétone » sont équivalents dans le cadre de la présente invention et peuvent être

employés l'un pour l'autre. La chlordécone (Numéro de CAS : 143-50-0), est un pesticide organochloré appartenant à la famille chimique des bishomocubanes dont la formule développée est présentée ci-dessous. En particulier, la chlordécone comprend 10 atomes de chlore et une fonction carbonyle.



La chlordécone est un contaminant toxique. C'est un contaminant de l'environnement pouvant notamment se retrouver accumulé dans les sols et les eaux. Il peut également contaminer le réseau trophique où il se retrouve particulièrement concentré dans les animaux situés en tête de chaîne alimentaire. La chlordécone peut en particulier se retrouver dans la chaîne alimentaire humaine, c'est un contaminant alimentaire.

La chlordécone est un composé cancérigène et reprotoxique, en particulier pour l'homme. Il est également un perturbateur endocrinien avéré : (Delfosse V. et al., 2014, Environ. Health Perspect., 122(12): 1306-1313). C'est également un polluant organique persistant. Il est en effet extrêmement stable, peu biodégradable.

Bactérie du genre *Citrobacter*

L'invention concerne des bactéries du genre *Citrobacter* capables d'induire la dégradation de la chlordécone.

Les inventeurs ont mis en évidence que deux nouvelles souches appartenant au genre *Citrobacter*, une souche appartenant à l'espèce *Citrobacter amalonaticus* et une souche appartenant à l'espèce *Citrobacter freundii* sont capables d'induire la dégradation de la chlordécone :

- La souche *Citrobacter*-86-1 a été déposée le 27 mai 2016 sous le numéro I-5099, dans la Collection Nationale de Cultures des Microorganismes (CNCM) de l'Institut Pasteur (CNCM, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15, FRANCE). Cette souche appartient au genre *Citrobacter*. Elle présente un ARN 16S de SEQ ID N°3 identique à 100 % à l'ARN 16S de la souche DSM4593 de

Citrobacter amalonaticus et identique à 97,6 % à l'ARN 16S de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*.

- La souche Citrobacter-92-1 a été déposée le 27 mai 2016 sous le numéro I-5100 dans la Collection Nationale de Cultures des Microorganismes (CNCM) de l'Institut Pasteur (CNCM, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, F-75724 Paris Cedex 15, FRANCE). Cette souche appartient au genre *Citrobacter*. Elle présente un ARN 16S de SEQ ID N°4 identique à 100 % à l'ARN 16S de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus* et identique à 97,6 % à l'ARN 16S de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*.
- La souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus* (DSM numéro d'accèsion : 4593, ATCC-25405).
- La souche DSM30039 de *Citrobacter freundii* (DSM numéro d'accèsion : 30039, Identifiant taxon NCBI : 1006003, Numéro d'accèsion Genbank : GCA_000312465.1)

Ainsi, dans un premier mode de réalisation, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention est sélectionnée dans le groupe constitué des bactéries appartenant aux espèces *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter sedlakii*, *Citrobacter werkmanii*, *Citrobacter Youngae*, *Citrobacter rodentium*, *Citrobacter gillenii*, *Citrobacter murlinae*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter pasteurii*, et un mélange de celles-ci.

De préférence, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention est sélectionnée dans le groupe constitué des bactéries appartenant aux espèces *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, et un mélange de celles-ci.

De manière encore préférée, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention est une bactérie appartenant à l'espèce *Citrobacter amalonaticus*.

De préférence, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention est une bactérie d'une souche de *Citrobacter amalonaticus* sélectionnée dans le groupe constitué des souches DSM4593 (ATCC-25405), Citrobacter-86-1 (CNCM I-5099), Citrobacte-92-1 (CNCM I-5100), 9823 (ATCC-25404), 9542 (ATCC-25406), 9461 (ATCC-25407), bMx 1302287 (ATCC- BAA-2562), bMx 1302288 (ATCC- BAA-2563), CBDM (21/X) (CVCM 1587), MgB-F (236M2) (CVCM 1140), L8A (Identifiant taxon NCBI : 35703, Numéro d'accèsion Genbank : GCA_000731055.1), Y19 (Numéro d'accèsion Genbank : GCA_000981805.1),

FDAARGOS_165 (Numéro d'accension Genbank : GCA_001558935.1), FDAARGOS_122 (Numéro d'accension Genbank : GCA_001559075.1), 3e8A (Numéro d'accension Genbank : GCA_000936345.1), GTA-817-RBA-P2 (Numéro d'accension Genbank : GCA_000972645.1), YG6 (Numéro d'accension Genbank : GCA_001276105.1), YG8 (Numéro d'accension Genbank : GCA_001276125.1), 3e8B (Numéro d'accension Genbank : GCA_001373155.1), FDAARGOS_166 (Numéro d'accension Genbank : GCA_001471655.1), JCKP6 (Numéro d'accension BioProject NCBI : PRJNA288921), MGH151 (Numéro d'accension BioProject NCBI : PRJNA271899), CAV1698 (Numéro d'accension BioProject NCBI : PRJNA246471), CAV1425 (Numéro d'accension BioProject NCBI : PRJNA246471), NCTC10805 (Numéro d'accension BioProject NCBI : PRJEB6403), et d'un mélange de celles-ci.

Dans un mode de réalisation préféré, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention comprend un ARN 16S ayant au moins 70 %, de préférence au moins 80 %, de manière encore préférée au moins 85 %, de manière toujours préférée au moins 90 %, de manière particulièrement préférée au moins 95 %, et de manière tout particulièrement préférée au moins 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 %, 99,9 % d'identité avec un ARN 16S sélectionné dans le groupe constitué de l'ARN 16S de SEQ ID N°1 de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, de l'ARN 16S de SEQ ID N°2 de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, de l'ARN 16S de SEQ ID N°3 de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et de l'ARN 16S de SEQ ID N°4 de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

Dans un mode de réalisation alternatif, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention comprend un ARN 16S ayant au moins 70 %, de préférence au moins 80 %, de manière encore préférée au moins 85 %, de manière toujours préférée au moins 90 %, de manière particulièrement préférée au moins 95 %, et de manière tout particulièrement préférée au moins 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 %, 99,9 % d'identité avec un ARN 16S sélectionné dans le groupe constitué de l'ARN 16S de SEQ ID N°1 de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, de l'ARN 16S de SEQ ID N°3 de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter*, et de l'ARN 16S de SEQ ID N°4 de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

Dans un autre mode de réalisation préféré, la bactérie du genre *Citrobacter* comprend un ARN 16S ayant 100 % d'identité avec un ARN 16S sélectionné dans le groupe constitué

de l'ARN 16S de SEQ ID N°1 de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, et de l'ARN 16S de SEQ ID N°2 de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, de l'ARN 16S de SEQ ID N°3 de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et de l'ARN 16S de SEQ ID N°4 de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

Dans un mode de réalisation alternatif, la bactérie du genre *Citrobacter* comprend un ARN 16S ayant 100 % d'identité avec un ARN 16S sélectionné dans le groupe constitué de l'ARN 16S de SEQ ID N°1 de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, de l'ARN 16S de SEQ ID N°3 de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et de l'ARN 16S de SEQ ID N°4 de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

Dans un mode de réalisation particulier, la bactérie du genre *Citrobacter* est sélectionnée dans le groupe constitué de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

Dans un mode de réalisation alternatif, la bactérie du genre *Citrobacter* est sélectionnée dans le groupe constitué de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

Dans un autre mode de réalisation alternatif, la bactérie du genre *Citrobacter* est sélectionnée dans le groupe constitué de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.

La présente invention est également relative aux nouvelles souches appartenant au genre *Citrobacter* déposées à la CNCM sous les références I-5099 et I-5100 respectivement, à une composition comprenant une ou plusieurs de ces bactéries, seules ou en combinaison avec d'autres bactéries et à leurs utilisations.

Conditions de culture et de dégradations de la chlordécone

La bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention peut être anaérobie stricte ou anaérobie facultative. Cependant, la dégradation de la chlordécone par une bactérie du genre *Citrobacter* a lieu en conditions anaérobies, en particulier dans des conditions réductrices.

De préférence, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention est capable de se multiplier en présence de chlordécone.

La bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention peut être cultivée dans tout milieu minéral adapté à la culture anaérobie de bactéries. De tels milieux sont bien connus de l'homme du métier. Un tel milieu est par exemple décrit dans Löffler FE et al (1996, Appl. Environ. Microbiol., 62 :3809-13) ou dans les exemples de cette demande de brevet.

Un milieu de culture pouvant être utilisé pour cultiver les bactéries du genre *Citrobacter* selon l'invention comprend une source de carbone, de préférence choisie dans le groupe constitué du pyruvate, du glycerol, du lactate, de l'acétate, et un mélange de ceux-ci. De manière encore préférée, la source de carbone est un mélange d'acide pyruvique, facultativement en mélange avec un extrait de levure et des peptones.

Le milieu de culture peut en outre comprendre des nutriments capables de stimuler la croissance des bactéries et/ou la dégradation des composés organochlorés. En particulier, ces nutriments peuvent être des vitamines telle que la vitamine B12 ou des minéraux.

Les bactéries du genre *Citrobacter* selon l'invention peuvent être cultivées en atmosphère réductrice, de préférence cette atmosphère réductrice est une combinaison de N₂ à 98 % et de H₂ à 2 %. Le milieu de culture peut en outre comprendre un réducteur, de préférence sélectionné dans le groupe constitué du Na₂S, du DTT, de la cystéine, et d'une combinaison de ceux-ci. De façon encore préférée, le réducteur présent dans le milieu de culture est le Na₂S.

Dans un mode de réalisation particulièrement préférée, les bactéries sont cultivés sous une atmosphère constituée d'une combinaison de N₂ à 98 % et de H₂ à 2 % et du Na₂S est présent dans le milieu de culture.

La bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention est capable d'induire la dégradation de la chlordécone. De préférence, cette dégradation est un processus de métabolisation.

De préférence, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention induit la dégradation de la chlordécone en composés ayant au moins un, de préférence au moins deux, de manière encore préférée au moins trois, de manière toujours préférée au moins quatre, et de manière tout particulièrement préférée au moins cinq, atomes de chlore de moins que la chlordécone.

De préférence, le composé résultant de la dégradation induite par la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention est en outre dépourvu de fonction carbonyle.

Par exemple, la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention peut induire la dégradation de la Chlordécone en un composé principal de formule brute C₉Cl₅H₃.

De préférence, les composés issus de la dégradation de la chlordécone par la bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention sont moins toxiques et/ou moins persistants dans l'environnement. En particulier, ils sont plus facilement biodégradables.

Composition

Une composition comprenant une ou plusieurs bactéries du genre *Citrobacter* selon l'invention peut être utilisée pour induire la dégradation de la chlordécone.

En particulier, une composition selon l'invention peut comprendre une combinaison de *Citrobacter amalonaticus* et de *Citrobacter freundii*.

Une composition selon l'invention peut encore comprendre une bactérie sélectionnée dans le groupe constitué de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5099, de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5100, et d'un mélange de celles-ci.

Une telle composition peut en outre comprendre d'autres bactéries, en particulier des bactéries n'appartenant pas au genre *Citrobacter*. Ces bactéries permettent d'améliorer la dégradation de la chlordécone par les bactéries du genre *Citrobacter* selon l'invention.

De préférence, lorsque la présente demande fait référence à une composition comprenant un *Citrobacter* de l'invention en combinaison avec d'autres bactéries, la composition comprend au maximum 25, 20, 15, 10, 5 ou 3 souches différentes de bactéries.

Traitement des sols, eaux, et/ou autres milieux contaminés

La bactérie du genre *Citrobacter* selon l'invention peut être utilisée pour induire la dégradation de la chlordécone présente dans un milieu contaminé. La bactérie du genre *Citrobacter* permet alors de décontaminer ce milieu.

Les milieux pouvant être décontaminés par les bactéries du genre *Citrobacter* comprennent, sans y être limités, les sols, les sédiments, les boues, les mangroves, des supports tels que les charbons actifs et les déchets domestiques, et les eaux contaminés par la chlordécone.

Les sols contaminés selon l'invention peuvent en particulier être des andosols qui ont un fort pouvoir de rétention de la chlordécone, ou des ferralsols ou nitisols (sols brun rouille) qui ont un pouvoir contaminant très élevé.

Les eaux contaminées par des bactéries du genre *Citrobacter* selon l'invention peuvent être des lacs, des nappes phréatiques, des étangs, des marres, des réservoirs d'eaux pluviales, des ruisseaux, des rivières, des fleuves, des mers et des océans.

Utilisation de souches de *Citrobacter amalonaticus* pour induire la dégradation des composés organochlorés

L'invention concerne également l'utilisation d'une bactérie appartenant au genre *Citrobacter* sélectionnée parmi les souches Citrobacter-86-1 et Citrobacter-92-1 déposées à la CNCM sous les références I-5099 et I-5100 respectivement, pour induire la dégradation des composés organochlorés, de préférence des pesticides organochlorés.

Les composés organochlorés selon l'invention sont de préférence sélectionnés dans le groupe constitué des solvants, des pesticides, des réfrigérants, des dioxines ou des molécules intermédiaires de synthèse en chimie et pharmacie. De préférences les composés organochlorés selon l'invention sont des pesticides, et de manière tout particulièrement préféré des insecticides.

Les composés organochlorés selon l'invention peuvent être des pesticides sélectionnés dans le groupe constitué du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), du dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE), du dichlorodiphényldichloroéthane (DDD), du penta-chlorobenzène, de l'hexachlorobenzène, du pentachlorophenol, de l'endrine, de la dieldrine, du Chlorpyrifos, de l'aldrine, de l'heptachlore, de l'heptachlore epoxyde endo, de l'heptachlore epoxy exo, du toxaphène, du diuron, des isomères de l'endosulfan, de l'endosulfan sulfate, du chlordane, des PCB (polychlorobiphényles), des hexachlorocyclohexanes (incluant le lindane), de la chlordécone (également appelé Képone®, Curlone® ou GC-1189®), de la 5b-monohydrochlordécone et des autres mono-, di-, tri-, tétra-, penta-, hexa-, hepta-, octa-, nona-hydrochlordécones, du chlordécol, de la perchlordécone (également appelé mirex®, GC-1283® ou Dechlorame®), du kelevan® (obtenu par condensation de la chlordécone avec de l'éthyl levulinate) et d'un mélange de ceux-ci.

De manière préférée, les composés organochlorés de l'invention sont des pesticides sélectionnés dans le groupe constitué de la chlordécone et du lindane.

Procédé

Dans un troisième aspect, l'invention concerne également un procédé de traitement d'un milieu contaminé par la chlordécone comprenant la mise en contact de ce milieu avec

une bactérie selon l'invention ou une composition selon l'invention, dans des conditions permettant d'induire la dégradation de ladite chlordécone par ladite bactérie ou ladite composition.

Dans un mode de réalisation préféré, le milieu contaminé est un sol, un sédiment, une boue, une mangrove, des supports tels que les charbons actifs et les déchets domestiques, ou des eaux tels que définis ci-dessus.

Le procédé selon l'invention peut être mis en œuvre soit sous forme de traitement in situ, soit après prélèvement du milieu contaminé. En particulier, pour un sol, le traitement peut être réalisé après excavation de ce sol.

La mise en contact de la bactérie selon l'invention ou de la composition selon l'invention avec le milieu contaminé peut notamment se faire par application, par pulvérisation, en particulier par épandage ou par injection.

En particulier, lorsque le milieu contaminé est un sol, la mise en contact peut se faire par épandage ou injection.

De préférence, le procédé comprend des mises en contact répétées de ladite bactérie ou de ladite composition avec le milieu contaminé.

Dans un mode de réalisation particulier, la mise en contact de la bactérie selon l'invention ou de la composition selon l'invention avec le milieu contaminé est précédée d'une étape de culture des bactéries dans un milieu de culture tel que décrit ci-dessus.

De préférence, la mise en contact est suivie d'une étape de dégradation de la chlordécone en condition anaérobie.

Dans un mode de réalisation particulier, le procédé comprend, avant l'étape de mise en contact, une étape de mesure de la concentration de chlordécone et de ses métabolites, dans le milieu contaminé.

Dans un autre mode de réalisation particulier, le procédé comprend une étape de vérification de l'efficacité de la dégradation de la chlordécone. Cette vérification peut se faire par mesure de la disparition de la chlordécone dans le milieu contaminé ou par mesure de l'augmentation de la concentration d'un métabolite de la chlordécone. Le métabolite dont l'augmentation de concentration est suivie est un composé ayant au moins un, de préférence au moins deux, de manière encore préférée au moins trois, de manière toujours préférée au moins quatre, et de manière tout particulièrement préférée au moins cinq, atomes de chlore de moins que la chlordécone. Il peut en particulier s'agir d'un composé de formule brute $C_9Cl_5H_3$.

Dans un mode de réalisation préféré, le procédé comprend en outre, avant et/ou après l'étape de mise en contact du milieu à traiter avec une bactérie selon l'invention ou une composition selon l'invention, une étape de traitement supplémentaire du milieu contaminé. Cette étape de traitement supplémentaire peut être une étape de traitement chimique, par exemple la mise en contact du milieu contaminé avec du fer zéro valent, ou une autre étape de traitement microbiologique, en condition anaérobie ou en condition aérobie.

Dispositif

Dans un quatrième aspect, l'invention concerne également un dispositif permettant la mise en œuvre du procédé de traitement d'un milieu contaminé par la chlordécone, dans lequel le dispositif comprend des moyens pour réaliser la mise en contact du milieu contaminé avec une bactérie selon l'invention ou avec une composition selon l'invention.

Dans un mode de réalisation préféré, le milieu contaminé est un sol, un sédiment, une boue, une mangrove, un support tel que les charbons actifs ou les déchets domestiques, ou des eaux tels que définis ci-dessus.

Kit

Dans un cinquième aspect, l'invention concerne également un kit de traitement d'un milieu contaminé par la chlordécone, dans lequel ledit kit comprend :

- des moyens pour réaliser la mise en contact avec ledit milieu d'une bactérie selon l'invention, ou d'une composition selon l'invention ; et
- au moins une bactérie selon l'invention, et/ou une composition selon l'invention; et optionnellement
- un milieu de culture des bactéries ; et/ou
- un manuel d'instructions expliquant l'utilisation du kit.

Dans un mode de réalisation préféré, le milieu contaminé est un sol, un sédiment, une boue, une mangrove, un support tel que les charbons actifs ou les déchets domestiques, ou des eaux tels que définis ci-dessus.

Bien qu'ayant des sens différents, les termes « comprenant », « ayant », « contenant » et « consistant en » peuvent être remplacés l'un par l'autre dans toute la description de l'invention.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples suivants donnés à titre illustratif et non limitatif.

EXEMPLES

1- Exemple de milieu de culture des bactéries du genre *Citrobacter* selon l'invention (Milieu MM6+) d'après Löffler FE et al (1996, Appl. Environ. Microbiol., 62 :3809-13)

Base du milieu de culture:

Mineral	
NaCl	17mM
MgCl ₂ 6H ₂ O	5mM
KH ₂ PO ₄ K ₂ HPO ₄	10mM
NH ₄ Cl	5.6mM
KCl	4mM
NaHCO ₃	10mM
Oligoéléments	/litre
Löffler A	1ml
Löffler B	1ml
Vitamines	/litre
Löffler Vitamines	10ml
Reducteur:	/litre
Na ₂ S 9H ₂ O	0.4g
Sources de carbone	
Pyruvate	10mM
Extrait de levure	2g/litre
Peptone	2g/litre
Resazurine	1mg

Oligoéléments :

	Loffler A (par litre)
HCl 25%	10ml
FeCl ₂ 4H ₂ O	1.5g
CoCl ₂ 6H ₂ O	190mg
MnCl ₂ 4H ₂ O	100mg
H ₃ BO ₃	6mg
ZnCl ₂	70mg
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	36mg
NiCl ₂ 6H ₂ O	24mg
CuCl ₂ 2 H ₂ O	2mg

	Loffler B (par litre)
Na ₂ SO ₃	6mg
Na ₂ WO ₄ 2H ₂ O	8mg
NaOH	0.5g

Vitamines :

	Loffler Vitamines (par litre)
Biotine	2 mg
Acide folique	2mg
Pyridoxine hydrochloride	10mg
riboflavine	5mg
Thiamine	5mg
Nicotinic acid	5mg
panthotenic acid	5mg
vitamine B12	0.1mg
p. amino benzoic acid	5mg
alpha lipoic acid	5mg

Conditions de culture : les bactéries de l'invention ont été cultivées dans ce milieu de culture à un pH de 7, à température ambiante et dans des conditions anaérobies et réductrices (N₂ 98 %, H₂ 2 %).

2- Dégradation de la chlordécone par quatre souches de bactéries du genre *Citrobacter*

Matériel et Méthodes

Souches bactériennes et conditions de culture

Les quatre souches testées lors de cette étude sont les souches décrites dans la description détaillée de cette demande (cf. p. 9), à savoir :

- Les deux souches nouvellement découvertes: la souche *Citrobacter*-86-1 et la souche *Citrobacter*-92-1.
- La souche DSM4593 de l'espèce *Citrobacter amalonaticus*.
- La souche DSM30039 de l'espèce *Citrobacter freundii*.

Ces bactéries ont été cultivées dans le milieu de culture et dans les conditions décrites dans l'exemple 1.

En début d'expérience, de la chlordécone a été ajouté au milieu de culture des bactéries à une concentration de 50 µg/ml. L'évolution de la concentration de la chlordécone et de ses métabolites dans le milieu de culture des bactéries a alors été suivie par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (analyse GC-MS) durant 161 jours.

Analyse GC-MS

L'analyse GC-MS a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Thermo Fisher Focus GC) couplée à un spectromètre de masse (Thermo Fisher DSQ II). Les instruments ont été équipés d'une colonne non-polaire 30 m x 0,25 mm x 0,25µm DB-5MS (Agilent J&W) et d'un injecteur à débit divisé/non-divisé. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit constant de 1 ml.min⁻¹. Le programme de chromatographie en phase gazeuse (GC) démarre à 80°C (temps de maintien de 1 min), suivi d'une progression à 50°C.min⁻¹ jusqu'à 140°C, puis d'une progression à 6°C.min⁻¹ jusqu'à 280°C (temps de maintien de 5 min). Les températures d'injection et de ligne de transfert ont été prévues à 200°C et 280°C, respectivement. Pour les analyses en spectrométrie de masse, les conditions expérimentales suivantes ont été appliquées : ionisation par impact électronique, mode de détection positif, source d'ions à 220°C, détecteur de voltage de 70 eV, mode de balayage « full scan » m/z 50-650 (temps de balayage de 0,26 s).

Extraction des échantillons

Après homogénéisation du milieu de culture, 500 µl de la solution turbide ont été prélevés et soumis à deux extractions à l'isooctane (250 µl). 3 µl des couches organiques combinées ont été injectés en mode non-divisé dans le GC-MS.

Résultats

La figure 1 présente les chromatogrammes obtenus à partir des échantillons prélevés dans les cultures des quatre souches bactériennes étudiées juste après ajout de la chlordécone (J0, cf. figure 1A) et après 161 jours de culture (J161, cf. figure 1 B à 1E).

A J0, un seul pic est observé sur le chromatogramme (cf. Figure 1A). Ce pic correspond à une molécule ayant un temps de rétention d'environ 21 minutes. Après analyse par spectrométrie de masse (résultat non-montré), les inventeurs ont pu montrer que la molécule à l'origine de ce pic est la chlordécone (CLD sur les figures).

A J161, l'analyse des chromatogrammes (cf. Figure 1B à 1E), permet de constater l'apparition d'un deuxième pic en plus du pic de chlordécone précédemment observé. Ce pic correspond à une molécule ayant un temps de rétention d'environ 16 minutes. Après analyse par spectrométrie de masse (résultat non-montré), les inventeurs ont pu montrer que la molécule à l'origine de ce deuxième pic est une molécule apparentée à la chlordécone, de formule brute $C_9Cl_5H_3$ (notée B1 sur les figures). Par rapport à la chlordécone, la molécule B1 présente cinq atomes de chlore en moins et n'a pas de fonction carbonyle. Au vu de sa composition chimique, la molécule B1 est issue de la dégradation de la chlordécone.

Après 161 jours de culture, pour les souches *Citrobacter*-86-1, *Citrobacter* 92-1 et la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, une diminution du pic correspondant à la chlordécone est observée de façon concomitante à l'apparition du pic de la molécule B1 (figures 1B à 1D). Concernant la souche de *Citrobacter freundii*, l'apparition d'un pic de molécule B1 est également observée, bien que l'amplitude soit plus modeste (cf. figure 1E).

Ces résultats démontrent que la molécule B1, de composition chimique proche de celle de la chlordécone et apparaissant dans le milieu de culture quand la concentration en chlordécone diminue, est bien un produit de dégradation de la chlordécone. Ainsi, les inventeurs ont pu démontrer que les quatre souches de bactéries *Citrobacter* étudiées sont capables d'induire la dégradation de la chlordécone en un métabolite B1 présentant cinq atomes de chlore en moins que la chlordécone.

Le pic correspondant au métabolite B1 est nettement plus petit chez la souche de *Citrobacter freundii* que chez la souche de *Citrobacter amalonaticus* et les souches *Citrobacter*-86-1 et *Citrobacter* 92-1. Les bactéries de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus* ainsi que les souches *Citrobacter*-86-1 et *Citrobacter* 92-1 induisent donc une dégradation plus efficace de la chlordécone, dans ces conditions, que la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*.

Parmi les trois souches dégradant fortement la chlordécone, le pic de chlordécone est particulièrement réduit, après 161 jours, pour la souche *Citrobacter* 86-1 (cf. Figure 1B). La diminution du pic de chlordécone est un peu moins marquée pour les souches *Citrobacter*-92-1 et DSM4593 (cf. Figures 1C et 1D). Ainsi, la souche *Citrobacter* 86-1 est particulièrement efficace pour induire la dégradation de la chlordécone en métabolite B1, dans ces conditions.

La figure 2 présente un suivi au cours du temps du rapport des aires des pics du pentachloroindène B1 et de la chlordécone dans le milieu de culture des quatre souches

bactériennes étudiées. Pendant environ les 60 premiers jours de culture, la proportion de métabolite B1 dans le milieu de culture reste faible, avant d'augmenter significativement (cf. Figure 2A pour les souches DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus* et les souches Citrobacter-86-1 et Citrobacter 92-1, et Figure 2B pour la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*).

L'analyse de cette figure confirme que les souches DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus* et les souches Citrobacter-86-1 et Citrobacter 92-1 semblent plus efficaces que la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii* pour induire la dégradation de la chlordécone en métabolite B1 et que la souche Citrobacter 86-1 est la souche induisant la dégradation la plus efficace de la chlordécone, dans ces conditions.

La transformation de la chlordécone en pentachloroindène B1 par les bactéries du genre *Citrobacter* implique vraisemblablement plusieurs étapes de déhalogénéation et l'élimination du groupement carbonyle de la chlordécone par des mécanismes restant encore à préciser. La dégradation de la chlordécone en métabolite B1 par les bactéries du genre *Citrobacter* représente une avancée majeure dans le domaine de la détoxification des milieux contaminés par la chlordécone. En effet, le métabolite B1, qui présente 5 atomes de chlore de moins que la chlordécone, devrait être bien plus facile à éliminer des sols et eaux polluées que la chlordécone.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'une bactérie du genre *Citrobacter* pour induire la dégradation de la chlordécone.
2. Utilisation d'une bactérie selon la revendication 1, dans laquelle la bactérie du genre *Citrobacter* comprend un ARN 16S ayant au moins 90 %, de préférence au moins 95 %, de manière encore préférée au moins 97 %, d'identité avec l'un quelconque des ARN 16S sélectionnés dans le groupe constitué par l'ARN 16S de SEQ ID N°1 de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, l'ARN 16S de SEQ ID N°2 de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, l'ARN 16S de SEQ ID N°3 de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et l'ARN 16S de SEQ ID N°4 de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.
3. Utilisation d'une bactérie selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle la bactérie du genre *Citrobacter* comprend un ARN 16S ayant 100 % d'identité avec l'un quelconque des ARN 16S sélectionnés dans le groupe constitué par l'ARN 16S de SEQ ID N°1 de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, l'ARN 16S de SEQ ID N°2 de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, l'ARN 16S de SEQ ID N°3 de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* et l'ARN 16S de SEQ ID N°4 de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter*.
4. Utilisation d'une bactérie selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans laquelle la bactérie est un *Citrobacter amalonaticus*.
5. Utilisation d'une bactérie selon la revendication 1, dans laquelle la bactérie du genre *Citrobacter* est sélectionnée dans le groupe constitué de la souche DSM4593 de *Citrobacter amalonaticus*, de la souche DSM30039 de *Citrobacter freundii*, de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5099 et de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5100.
6. Utilisation d'une bactérie selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle la bactérie est capable d'induire la dégradation de la chlordécone, de préférence par l'élimination d'au moins un, de préférence d'au moins deux, de manière encore

préférée d'au moins trois, de manière toujours préférée d'au moins quatre, et de manière tout particulièrement préférée d'au moins cinq, atomes de chlore.

7. Utilisation d'une bactérie selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle la bactérie est en condition anaérobie.
8. Utilisation d'une bactérie selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle la bactérie est comprise dans une composition comprenant d'autres bactéries.
9. Utilisation d'une bactérie selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle la bactérie est utilisée dans le traitement de sols et/ou d'eaux, de boues, de mangroves, de sédiments, et/ou de charbons actifs contaminés par la chlordécone.
10. Composition comprenant une bactérie sélectionnée dans le groupe constitué de la souche Citrobacter-86-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5099, de la souche Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter* déposée à la CNCM sous la référence I-5100, et d'un mélange de celles-ci.
11. Procédé de traitement de sols et/ou d'eaux et/ou de charbons actifs contaminés par la chlordécone, dans lequel ledit procédé comprend la mise en contact de sol et/ou d'eau et/ou de charbons actifs contaminés par la chlordécone avec une bactérie selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, ou d'une composition selon la revendication 10, dans des conditions permettant l'induction de la dégradation de la chlordécone par ladite bactérie ou ladite composition.
12. Dispositif pour mettre en œuvre le procédé de traitement de sols et/ou eaux contaminés par la chlordécone selon la revendication 11, dans lequel le dispositif comprend des moyens pour réaliser la mise en contact du sol et/ou d'eaux avec une bactérie selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 ou avec une composition selon la revendication 10.
13. Kit de traitement de sols et/ou eaux contaminés par la chlordécone, dans lequel ledit kit comprend :
 - des moyens pour réaliser la mise en contact avec le sol et ou les eaux d'une bactérie selon la revendication 12 ; et

- au moins une bactérie selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, et/ou une composition selon la revendication 10; et optionnellement
- un milieu de culture des bactéries ; et/ou
- un manuel d'instructions expliquant l'utilisation du kit.

14. Bactérie du genre *Citrobacter* sélectionnée dans le groupe constitué des souches Citrobacter-86-1 et Citrobacter-92-1 appartenant au genre *Citrobacter* et déposées à la CNCM sous les références I-5099 et I-5100 respectivement.

1/4
FIGURE 1A

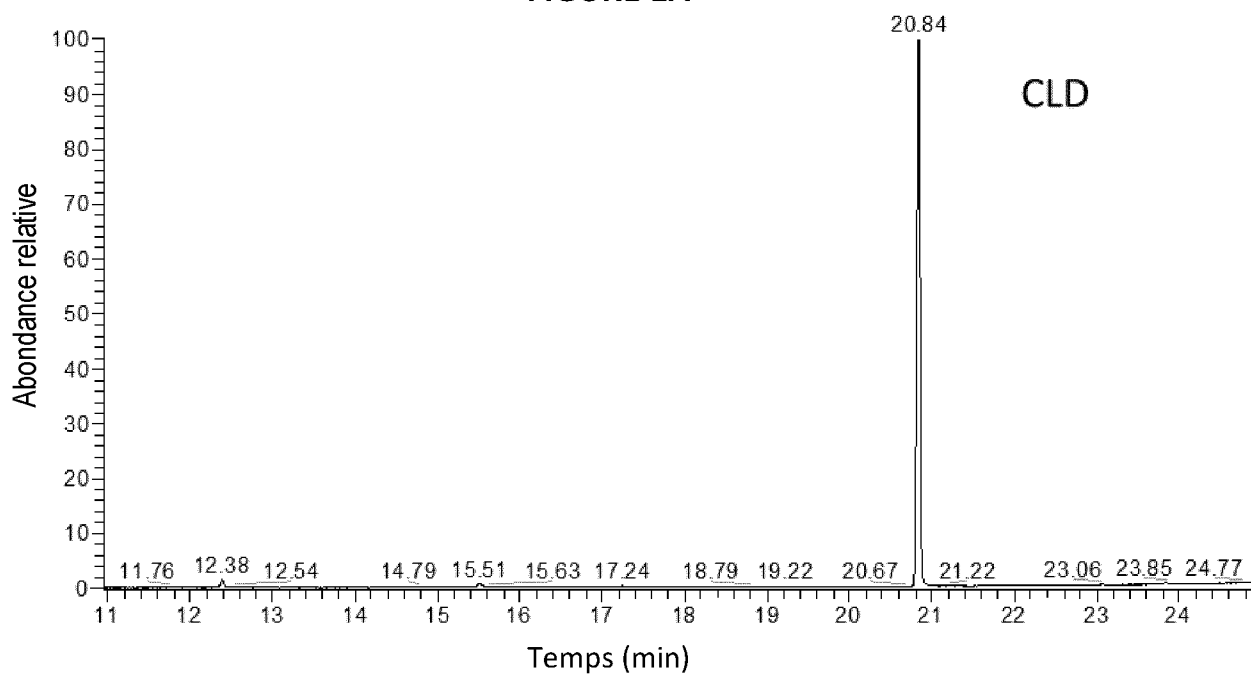
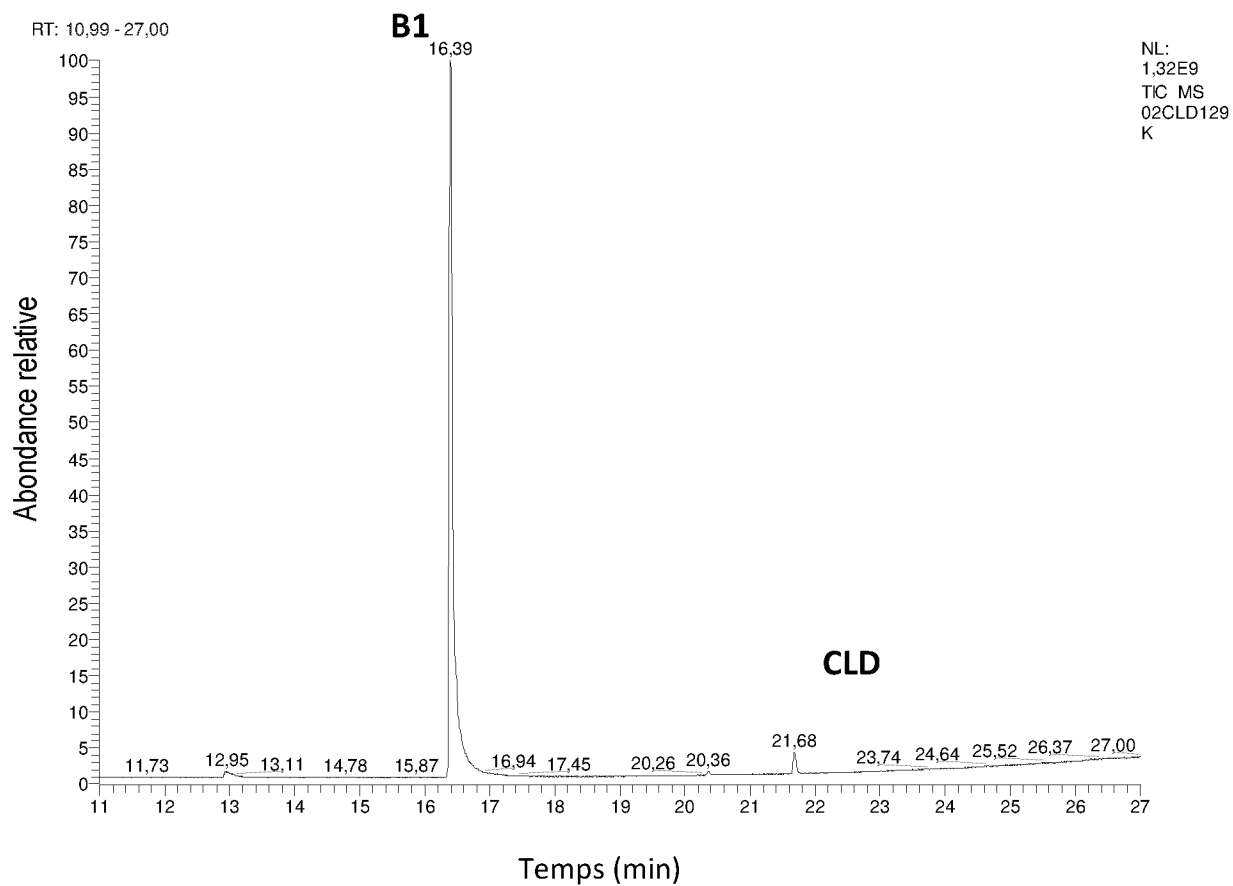


FIGURE 1B



2/4

FIGURE 1C

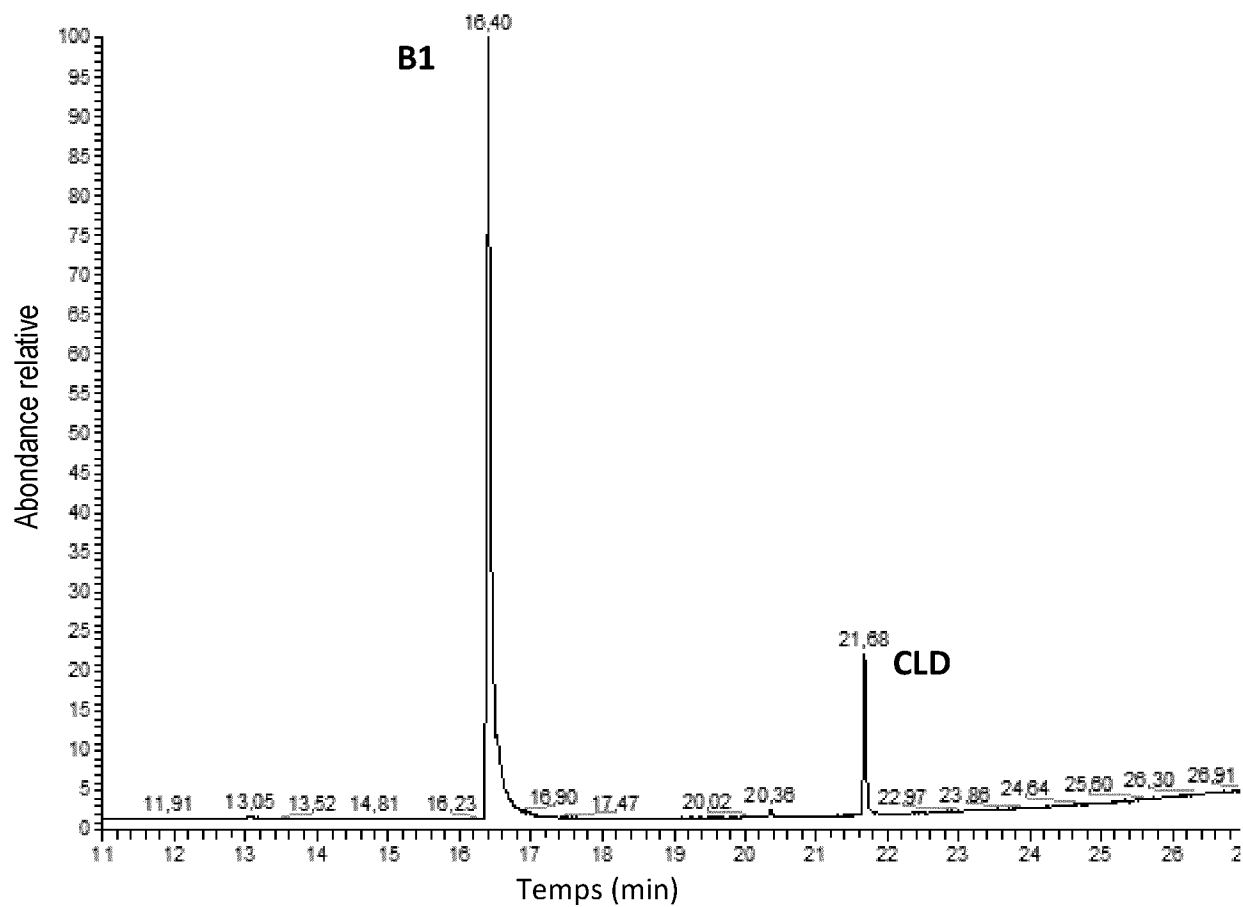
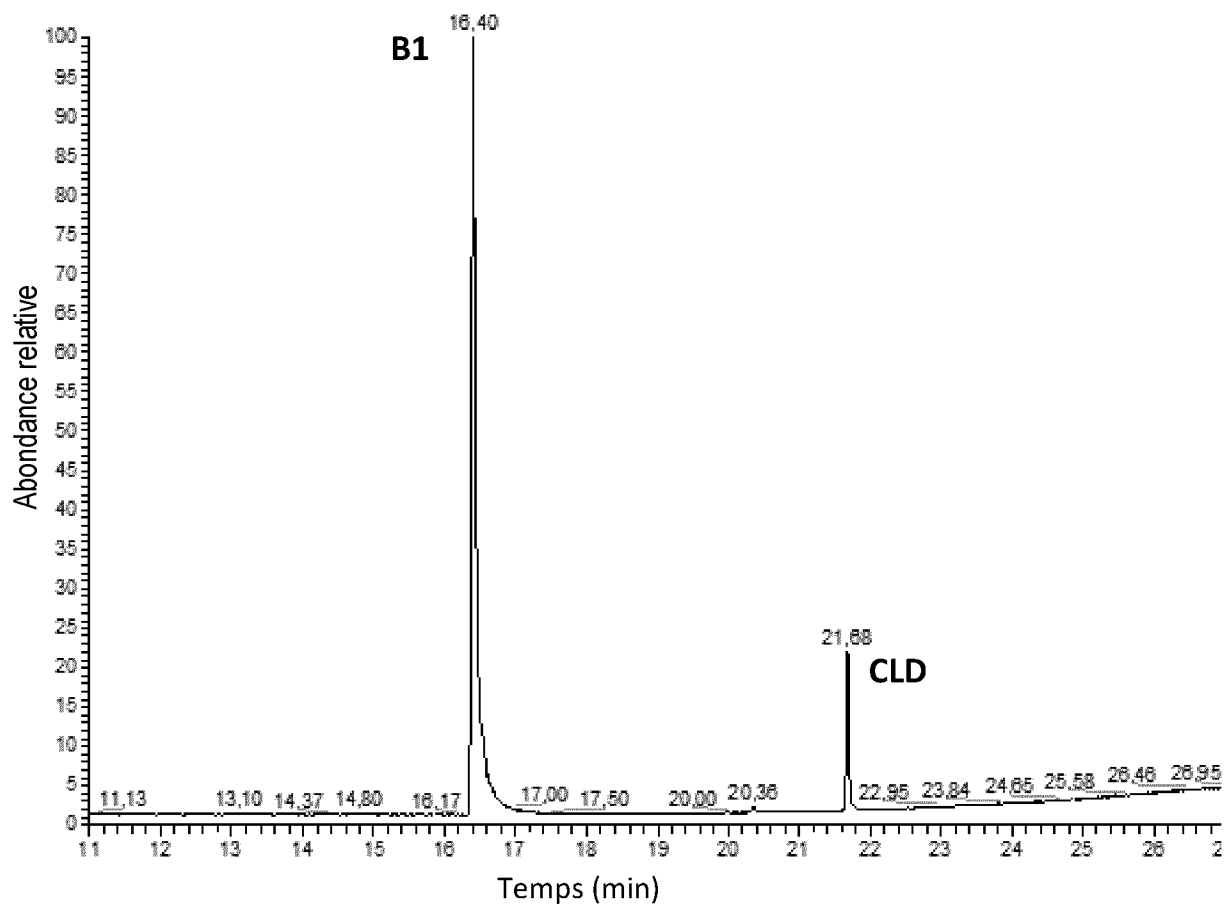
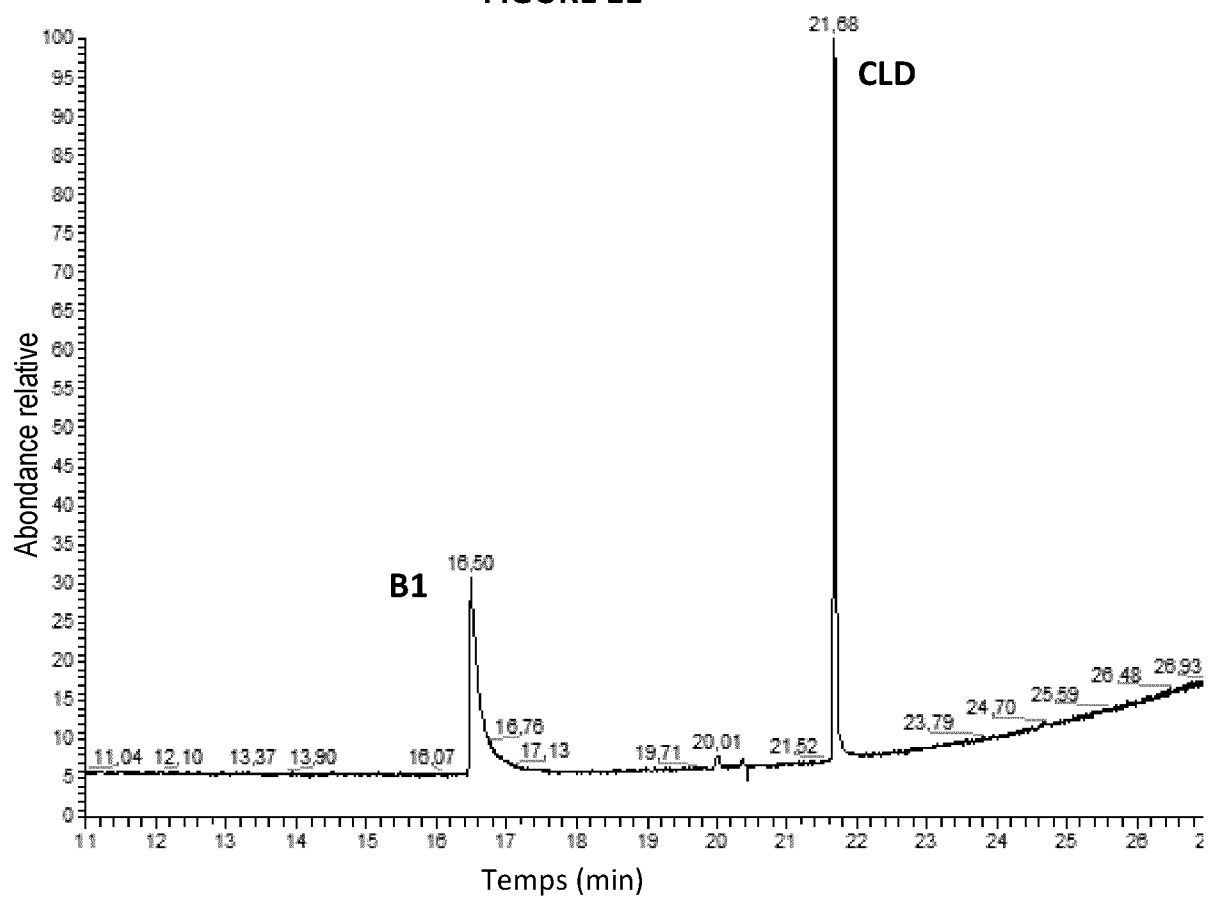


FIGURE 1D



3/4
FIGURE 1E



4/4
FIGURE 2A

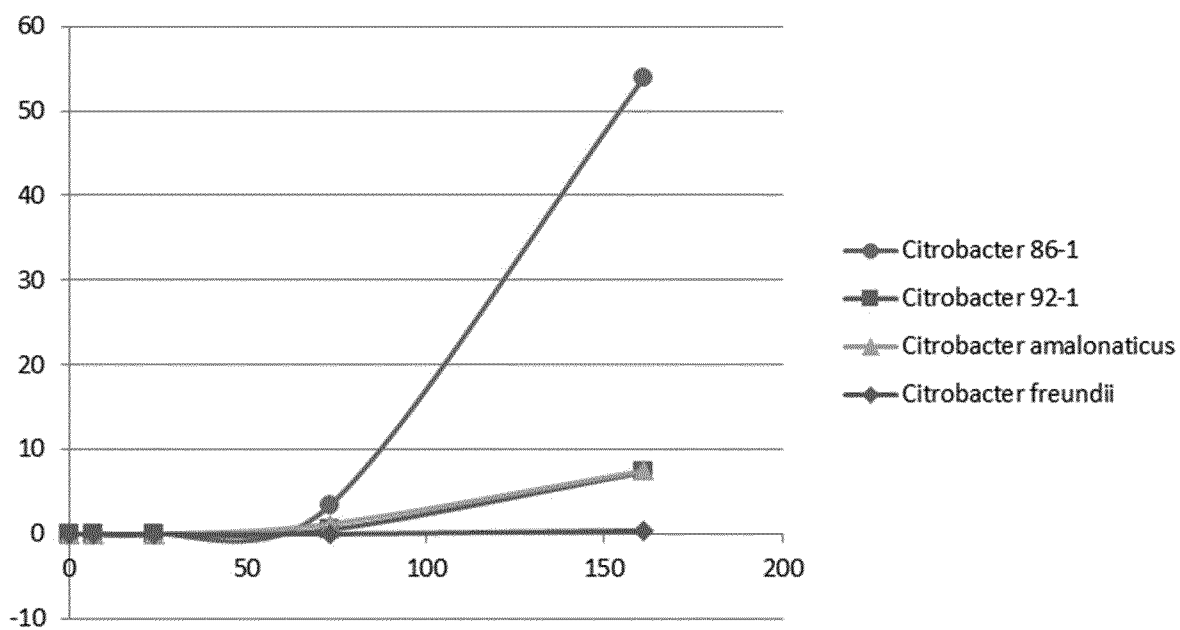
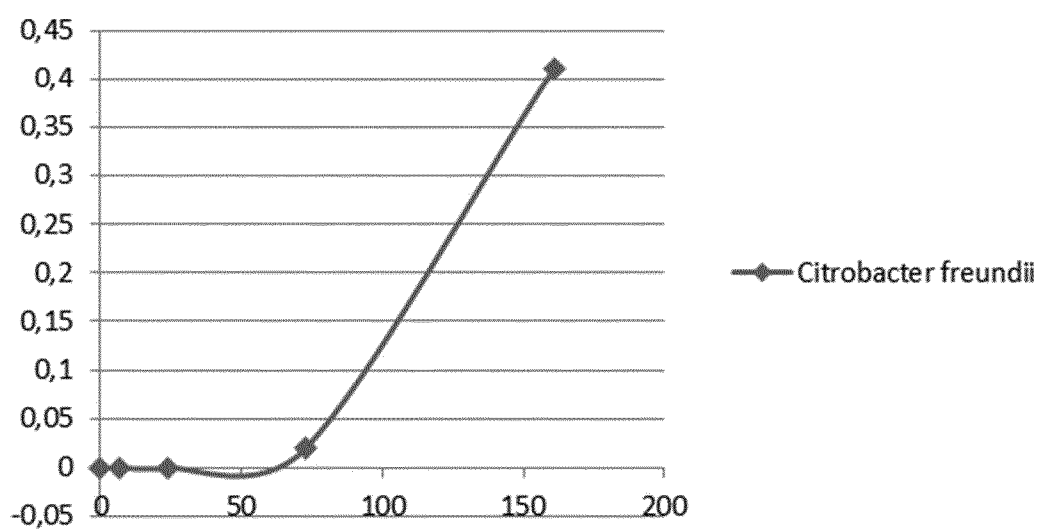


FIGURE 2B



SEQUENCE LISTING

<110> COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE ET AUX ENERGIES
ALTERNATIVES

<120> Utilisation d'une bactérie du genre Citrobacter pour dégrader la
chlordécone

<130> B2248FR

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1530

<212> DNA

<213> Citrobacter amalonaticus

<400> 1

agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgaac	60
ggtaacagga agcagcttgc tgccttgctg acgagtggcg gacgggtgag taatgtctgg	120
gaaactgccc gatggagggg gataactact ggaaacggta gctaataccg cataatgtcg	180
caagaccaa gagggggacc ttcgggcctc ttgccatcgg atgtcccag atgggattag	240
ctagtgttg aggtaacggc tcaccaaggc gacgatccct agctggtctg agaggatgac	300
cagccacact ggaactgaga cacgggccag actcctacgg gaggcagcag tggggaatat	360
tgcacaatgg gcgcaagcct gatgcagcca tgccgcgtgt atgaagaagg ccttcgggtt	420
gtaaagtact ttcagcgggg aggaaggggt taaggttaat aaccttagcc attgacgtta	480
ccgcagaag aagcaccggc taactccgtg ccagcagccg cggtataacg gaggggtcaa	540
gcgttaatcg gaattactgg gcgtaaagcg cacgcaggcg gtctgtcaag tcggatgtga	600
aatccccggg ctcaacctgg gaactgcatt cgaaactggc aggcctgagt ctgtagagg	660
ggggtagaat tccaggtgta gcggtgaaat gcgtagagat ctggaggaat accggtggcg	720
aaggcggccc cctggacgaa gactgacgct caggtgcgaa agcgtgggga gcaaacagga	780
ttagataccc tgtagtcca cgccgtaaac gatgtctatt tggaggttgt gcccttgagg	840
cgtggcttcc ggagctaacg cgtaaatag accgcctggg gactacggcc gcaagggtta	900
aactcaaatg aattgacggg ggccccgaca agcgggtggag catgtggttt aattcgatgc	960

aacgcgaaga accttacctg gtcttgacat ccacagaact tggcagagat gccttggtgc 1020
 cttcgggaac tgtgagacag gtgctgcatg gctgtcgtca gctcgtgttg tgaaatgttg 1080
 ggftaagtcc cgcaacgagc gcaaccctta tcctttgttg ccagcgggcc ggccgggaac 1140
 tcaaaggaga ctgccagtga taaactggag gaaggtgggg atgacgtcaa gtcacatgg 1200
 cccttacgac cagggtctaca cacgtgctac aatggcatat acaaagagaa gcgacctcgc 1260
 gagagcaagc ggacctcata aagtatgtcg tagtccggat tggagtctgc aactcgactc 1320
 catgaagtgc gaatcgctag taatcgtgga tcagaatgcc acggtgaata cgftcccggg 1380
 ccttgtagac accgcccgc acaccatggg agtgggttgc aaaagaagta ggtagcttaa 1440
 ccttcgggag ggcgcttacc actttgtgat tcatgactgg ggtgaagtgc taacaaggta 1500
 accgtagggg aacctgcggt tggatcacct 1530

<210> 2

<211> 1530

<212> DNA

<213> Citrobacter freundii

<400> 2

agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgaac 60
 ggtagcacag aggagcttgc tccttgggtg acgagtggcg gacgggtgag taatgtctgg 120
 gaaactgccc gatggagggg gataactact ggaaacggta gctaataccg cataacgtcg 180
 caagacaaaa gagggggacc ttcgggcctc ttgccatcgg atgtcccag atgggattag 240
 ctagtaggtg gggtaacggc tcacctaggc gacgatccct agctggtctg agaggatgac 300
 cageccact ggaactgaga cacggtccag actcctacgg gaggcagcag tggggaatat 360
 tgcacaatgg gcgcaagcct gatgcagcca tgccgcgtgt atgaagaagg ccttcgggtt 420
 gtaaagtact ttcagcgagg aggaaggcgt tgtggtaat aaccgcagcg attgacgtta 480
 ctgcagaag aagcaccggc taactccgtg ccagcagccg cggtaatag gagggtgcaa 540
 gcgttaatcg gaattactgg gcgtaaagcg cacgcaggcg gtctgtcaag tcggatgtga 600
 aatccccggg ctcaacctgg gaactgcatc cgaaactggc aggctagagt cttgtagagg 660
 ggggtagaat tccaggtgta gcggtgaaat gcgtagagat ctggaggaat accggtggcg 720

aaggcggccc cctggacaaa gactgacgct cagggtgcgaa agcgtgggga gcaaacagga 780
ttagataccc tggtagtcca cgccgtaaac gatgtcgact tggaggttgt gcccttgagg 840
cgtggcttcc ggagctaacg cgttaagtcg accgcctggg gagtacggcc gcaaggttaa 900
aactcaaatg aattgacggg ggccccgaca agcggaggag catgtggttt aattcgatgc 960
aacgcgaaga accttaccta ctcttgacat ccagagaact tagcagagat gctttggtgc 1020
cttcgggaac tctgagacag gtgctgcatg gctgtcgtca gctcgtgttg tgaaatgttg 1080
ggttaagtcc cgcaacgagc gcaaccctta tcccttggtg ccagcgggtc ggccgggaac 1140
tcaaaggaga ctgccagtga taaactggag gaaggtgggg atgacgtcaa gtcacatgg 1200
cccttacgag tagggctaca cacgtgctac aatggcatat acaaagagaa gcgacctgc 1260
gagagcaagc ggacctcata aagtatgtcg tagtccggat tggagtctgc aactcgactc 1320
catgaagtcg gaatcgctag taatcgtgga tcagaatgcc acggtgaata cgttcccggg 1380
cctgtacac accgcccgtc acaccatggg agtgggttgc aaaagaagta ggtagcttaa 1440
ccttcgggag ggcgcttacc actttgtgat tcatgactgg ggtgaagtcg taacaaggta 1500
accgtagggg aacctgcggt tggatcacct 1530

<210> 3

<211> 1530

<212> DNA

<213> Citrobacter

<400> 3

agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcaggc ctaacacatg caagtcgaac 60
ggtaacagga agcagcttgc tgccttgctg acgagtggcg gacgggtgag taatgtctgg 120
gaaactgccc gatggagggg gataactact ggaaacggta gctaataccg cataatgtcg 180
caagacaaa gaggggggacc ttcgggcctc ttgccatcgg atgtgccag atgggattag 240
cttgttggtg aggtaacggc tcaccaaggc gacgatccct agctggtctg agaggatgac 300
cagccacact ggaactgaga cacgggccag actcctacgg gaggcagcag tggggaatat 360
tgcacaatgg gcgcaagcct gatgcagcca tgccgcgtgt atgaagaagg ccttcgggtt 420
gtaaagtact ttcagcgggg aggaaggggt taaggttaat aacctagcc attgacgtta 480

cccgcagaag aagcaccggc taactccgtg ccagcagccg cggtataacg gaggggtgcaa 540
 gcgttaatcg gaattactgg gcgtaaagcg cacgcagcg gtctgtcaag tcggatgtga 600
 aatccccggg ctcaacctgg gaactgcatt cgaaactggc aggcttgagt ctcgtagagg 660
 ggggtagaat tccaggtgta gcggtgaaat gcgtagagat ctggaggaat accggtggcg 720
 aaggcggccc cctggacgaa gactgacgct caggtgcgaa agcgtgggga gcaaacagga 780
 ttgataccc tggtagtcca cgccgtaaac gatgtctatt tggaggttgt gcccttgagg 840
 cgtggcttcc ggagctaacg cgtaaataag accgcctggg gagtacggcc gcaaggtaa 900
 aactcaaatg aattgacggg ggccgcaca agcgtggag catgtggtt aattcgatgc 960
 aacgcgaaga accttacctg gtcttgacat ccacagaact tggcagagat gccttggtgc 1020
 cttcggaac tgtgagacag gtgtgcatg gctgtcgtca gctcgtgtg tgaaatgtg 1080
 ggtaagtcc cgcaacgagc gcaaccctta tctttgtg ccagcgggcc ggccgggaac 1140
 tcaaaggaga ctgccagtga taaactggag gaaggtgggg atgacgtcaa gtcacatgg 1200
 cccttacgac cagggtaca cacgtgtac aatggcatat acaaagagaa gcgacctgc 1260
 gagagcaagc ggacctcata aagtatgtcg tagtccgat tggagtctgc aactcgactc 1320
 catgaagtcg gaatcgtag taatcgtgga tcagaatgcc acggtgaata cgttcccggg 1380
 cctgtacac accgcccgtc acacatggg agtgggtgc aaaagaagta ggtagctaa 1440
 ccttcgggag ggcgcttacc actttgtgat tcatgactgg ggtgaagtcg taacaaggta 1500
 accgtagggg aacctgcggt tggatcacct 1530

<210> 4

<211> 1530

<212> DNA

<213> Citrobacter

<400> 4

agagtttgat catggctcag attgaacgct ggcggcagcg ctaacacatg caagtcgaac 60
 ggtaacagga agcagcttgc tgctttgctg acgagtggcg gacgggtgag taatgtctgg 120
 gaaactgccc gatggagggg gataactact ggaaacggta gctaataccg cataatgtcg 180
 caagacaaa gagggggacc ttcgggcctc ttgccatcgg atgtcccag atgggattag 240

cttgttggtg aggtaacggc tcaccaaggc gacgatccct agctggctg agaggatgac 300
 cagccacact ggaactgaga cacggtccag actcctacgg gaggcagcag tggggaatat 360
 tgcacaatgg gcgcaagcct gatgcagcca tgccgcgtgt atgaagaagg ccttcggggt 420
 gtaaagtact ttcagcgggg aggaaggggt taaggttaat aaccttagcc attgacgtta 480
 cccgcagaag aagcaccggc taactccgtg ccagcagccg cggtataacg gagggtgcaa 540
 gcgttaatcg gaattactgg gcgtaaagcg cacgcaggcg gtctgtcaag tcggatgtga 600
 aatccccggg ctcaacctgg gaactgcatt cgaaactggc aggcttgagt ctcgtagagg 660
 ggggtagaat tccaggtgta gcggtgaaat gcgtagagat ctggaggaat accggtggcg 720
 aaggcggccc cctggacgaa gactgacgct caggtgcgaa agcgtgggga gcaaacagga 780
 ttagataccc tggtagtcca cgccgtaaac gatgtctatt tggaggttgt gcccttgagg 840
 cgtggcttcc ggagctaacg cgftaaatag accgcctggg gactacggcc gcaaggttaa 900
 aactcaaatg aattgacggg ggccccgaca agcgggtggag catgtggttt aattcgatgc 960
 aacgcgaaga accttacctg gtcttgacat ccacagaact tggcagagat gccttggtgc 1020
 cttcgggaac tgtgagacag gtgctgcatg gctgtcgtca gctcgtgttg tgaaatgttg 1080
 ggftaagtcc cgcaacgagc gcaaccctta tctttgttg ccagcggtta ggccgggaac 1140
 tcaaaggaga ctgccagtga taaactggag gaaggtgggg atgacgtcaa gtcacatgg 1200
 cccttacgac cagggttaca cacgtgctac aatggcatat acaaagagaa gcgacctgc 1260
 gagagcaagc ggacctcata aagtatgtcg tagtccggat tggagtctgc aactcgactc 1320
 catgaagtcg gaatcgctag taatcgtgga tcagaatgcc acggtgaata cgttccccgg 1380
 ccttgtagac accgcccgtc acacatggg agtgggttgc aaaagaagta ggtagcttaa 1440
 ccttcgggag ggcgcttacc actttgtgat tcatgactgg ggtgaagtcg taacaaggta 1500
 accgtagggg aacctgcggt tggatcacct 1530



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 826915
FR 1654913

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	MERLIN CHLOÉ ET AL: "Evaluation of the ecotoxicological impact of the organochlorine chlordecone on soil microbial community structure, abundance, and function", ENVIRONMENTAL SCIENCE AND POLLUTION RESEARCH INTERNATIONAL, ECOMED, LANDSBERG, DE, vol. 23, no. 5, 30 mai 2015 (2015-05-30), pages 4185-4198, XP035937942, ISSN: 0944-1344, DOI: 10.1007/S11356-015-4758-2 [extrait le 2015-05-30] * le document en entier * * en particulier: abrégé; page 4187, col. 1, dernier par.-col. 2, par. 1; conclusion *	12	C12N1/20 A62D3/02 B09C1/10 C02F3/34
A	----- FUTA SAKAKIBARA ET AL: "Isolation and identification of dieldrin-degradingsp. strain KSF27 using a soilcharcoal perfusion method with aldrin-diol as a structural analog of dieldrin", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 411, no. 1, 17 juin 2011 (2011-06-17), pages 76-81, XP028327102, ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2011.06.096 [extrait le 2011-06-17] * le document en entier * * en particulier: abrégé; page 79, col. 2, par. 1; page 80, col. 1, par. 3.4; Tableau 1 * ----- -/-	1-14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) C12R B09C C02F
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
19 octobre 2016		Dumont, Elisabeth	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 826915
FR 1654913

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A,D	S A Orndorfft ET AL: "Microbial Transformation of Kepone", 1 janvier 1980 (1980-01-01), pages 398-406, XP055311916, Extrait de l'Internet: URL:http://aem.asm.org/content/39/2/398.full.pdf#page=1&view=FitH [extrait le 2016-10-18] * abrégé * * page 401, colonne 1, dernière ligne - colonne 2, alinéa 2 * -----	1-14	
A	DATABASE EMBL [Online] 12 septembre 2007 (2007-09-12), "Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi C strain C2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.", XP002763134, extrait de EBI accession no. EM STD:EU118091 Database accession no. EU118091 * 98.5 % d'identité sur 1530 positions avec l'ARN 16S de SEQ ID NO:1; le document en entier * * séquence * ----- -/--	1-14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
19 octobre 2016		Dumont, Elisabeth	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 826915
FR 1654913

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	Aourell Mauffret ET AL: "Biodegradation of both chlordecone and degradation products resulting from chemical treatment", SETAC Europe 26th Annual Meeting, 1 mai 2016 (2016-05-01), page 1288790, XP055311867, Extrait de l'Internet: URL:https://hal-brgm.archives-ouvertes.fr/hal-01288790/document [extrait le 2016-10-18] * le document en entier * -----	1-14	
A	HANANE BELGHIT ET AL: "Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for identifying aqueous chlordecone hydrate dechlorinated transformation products formed by reaction with zero-valent iron", INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL ANALYTICAL CHEMISTRY, vol. 95, no. 2, 26 janvier 2015 (2015-01-26), pages 93-105, XP055311695, GB ISSN: 0306-7319, DOI: 10.1080/03067319.2014.994615 * abrégé * ----- -/--	1-14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
19 octobre 2016		Dumont, Elisabeth	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 826915
FR 1654913

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	CABIDOCHÉ Y M ET AL: "Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue", ENVIRONMENTAL POLLUTION, BARKING, GB, vol. 157, no. 5, 1 mai 2009 (2009-05-01), pages 1697-1705, XP026081699, ISSN: 0269-7491, DOI: 10.1016/J.ENVPOL.2008.12.015 [extrait le 2009-01-23] * le document en entier * -----	1-14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
		19 octobre 2016	Dumont, Elisabeth

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons
.....
& : membre de la même famille, document correspondant