



Département de Microbiologie

MÉMOIRE

Présenté par

HAMDI Mehdi

HASNIOU Tesnim

HAROUEN Rihem

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

THÈME

Les Bactériophages : Isolement, Purification et Amplification.

Soutenue publiquement le : 29/06/2025

Devant le jury composé de :

Mme. HAICHOIR Nora

MCB univ. Sétif 1

Présidente

Mme. MEZAACHE-AICHOIR Samia

Pr univ. Sétif 1

Encadrante

Mr. KHENCHOUCHE Abdelhalim

Pr univ. Sétif 1

Examineur

Année universitaire : 2024/2025

LMA

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Chapitre I : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE.....3

I.	Généralités sur les Bactériophages.....	4
1.	Définition des bactériophages.....	4
2.	Découverte des bactériophages.....	5
3.	Structure.....	7
4.	Classification.....	7
4.1.	Les phages à queue.....	9
4.1.1.	L'ordre des <i>Caudovirales</i>	9
4.2.	Les phages enveloppés.....	10
4.3.	Les phages à petites capsides icosaédriques ou à morphologie filamenteuse.....	11
5.	Cycles de multiplication.....	13
5.1.	Le cycle lytique des phages virulents.....	13
5.2.	Le cycle lysogénique des phages tempérés.....	14
5.3.	Le cycle pseudo-lysogénique.....	15
5.4.	Le cycle chronique.....	15
6.	Distribution des phages dans la nature.....	16
6.1.	Le phagéome marin.....	16
6.2.	Les phages de sol.....	18
6.3.	Le phagéome intestinal.....	18
6.3.1.	Distribution des phages dans les intestins.....	19
7.	Mécanismes de défense bactérienne et mécanismes de contre-défense bactérienne.....	22
7.1.	Mécanismes de défense bactérienne.....	22
7.1.1.	Les mécanismes de pré-infection.....	22

7.1.2. Les mécanismes de post-infection.....	22
7.1.3. Système d'infection abortive (système Abi)	24
7.2. Mécanismes de contre-défense bactérienne.....	25
Chapitre II : ETUDE EXPERIMENTALE.....	26
II.1. Matériels et Méthodes.....	27
II.1.1. Isolement et amplification de bactériophages spécifiques.....	27
1. Présentation du Site d'étude.....	27
2. Prélèvement des échantillons.....	28
3. Matériel biologique	29
4. Isolement des bactériophages à partir des eaux usées.....	29
4.1. Centrifugation.....	29
4.2. Filtration.....	29
4.3. Repiquage des souches.....	30
4.4. Agar double couche.....	30
5. Purification et enrichissement.....	30
II.1.2. Evaluation de la capacité d'épuration des eaux usées.....	32
1. Repiquage des souches.....	32
2. Méthode	32
3. Analyse statistique.....	33
II.2. Résultats et discussion.....	34
II.2.1. Isolement et amplification de bactériophages spécifiques.....	34
1. Isolement des bactériophages.....	34
2. Morphologie et taille des plages de lyse.....	38
3. Purification et enrichissement	41
4. Stockage des phages.....	44
II.2.2. Evaluation de la capacité d'épuration des eaux usées.....	45
1. Repiquage des souches.....	45
Conclusion.....	49
Recommandations.....	50
Références bibliographiques	

Remerciements

*Avant toute chose, nous remercions **Dieu Tout-Puissant**, de nous avoir accordé la santé, le savoir, la patience et la volonté pour mener à bien ce travail.*

*Nos vifs remerciements sont adressés à **Mme. MEZAACHE-AICHOOR Samia**, professeure de l'UFASI et directrice de notre mémoire, pour nous avoir accepté au sein de sa haute bienveillance, pour ses conseils avisés, son soutien et son savoir, qu'elle a partagé avec une grande générosité et surtout pour les moments de partage marqués par son sourire et sa bonne humeur, qui ont rendu cette expérience encore plus enrichissante et motivante. Nous tenons à la remercier également, pour le temps qu'elle nous a consacré, sa disponibilité, son attention constante portée à ce travail et sa présence rassurante à chaque étape de notre parcours. Plus qu'une encadrante, elle a été une véritable mère pour nous et une véritable source d'inspiration. Que dieu lui accorde une longue vie remplie de paix, une bonne santé et encore plus de prospérité.*

*A notre présidente de mémoire **Mme. HAICHOOR Nora**, MCB de l'UFASI, pour nous avoir accepté de présider ce mémoire. Nous sommes profondément reconnaissants.*

*A Mr. **KHENCHOUCHE Abdelhalim**, professeur de l'UFASI et examinateur de ce travail, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de juger notre travail.*

*Nos sincères remerciements vont également aux ingénieurs du laboratoire de microbiologie appliquée : **Mme. BOULAHBEL Amel** et **Mme. DASSI Samia**. Ainsi qu'aux techniciennes du laboratoire de graduation au niveau de la faculté : **Mme. HAMMOUDI Soria** et **Mme. ROUABAH Abla**, pour tous leurs services tout au long de cette période.*

*Sans oublier **Mr. BOUDJEHEM Faycel**, l'équipe de l'entreprise ONA de Sétif et tout le personnel de la station d'épuration de Bazer Sakhra – EL Eulma, dont le directeur **Mr. BELBEDJ Saleh** et **Mr. ROBA Zohir**.*

*A **Dr. BOUDECHICHA Amel** et à **Mlle. TABET Chaima** pour leurs services.*

Notre profonde gratitude va également à l'ensemble de nos professeurs, qui ont su, tout au long de ces années, nous transmettre leur savoir et leur rigueur scientifique, ainsi que tout le personnel du département de microbiologie de notre faculté.

Et finalement, à tous ceux qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail de près ou de loin.

Merci à tous.

Dédicaces

Je dédie ce travail

À la science, à la recherche et à la curiosité, piliers de toute découverte et moteur de progrès.

À la microbiologie, mère discrète des sciences de la vie.

Cette science fascinante qui nous révèle l'invisible, et ce monde minuscule qui nous a appris à regarder au-delà de ce que l'œil perçoit.

À ma chère famille, pilier de mon existence, racine de mes valeurs et source de ma persévérance.

À mes petits anges Ilyes, Haroune et Maïssa, que ce travail vous inspirera à toujours croire en l'importance de savoir.

À mes très chers amis SEFFIH Louai et BELAIDI Akrem, pour tout ce qu'on a partagé, construit, traversé et rêvé.

À mes formidables compagnons de parcours, Tesnim et Rihem, avec qui j'ai marché ce long chemin.

Et finalement, à celles et ceux qui se battent chaque jour pour avancer et espérer.

Mehdi

Dédicaces

À mes parents,

Merci pour votre amour inconditionnel, vos prières, vos sacrifices et votre soutien constant. Vous êtes ma plus grande source d'inspiration.

À ma meilleure amie d'enfance TACHRAFT Wissal,

Ta présence, ton écoute et tes mots d'encouragement ont été une lumière dans les moments de doute. Merci d'avoir toujours cru en moi.

À mes compagnons de parcours Mehdi et Rihem,

Pour les révisions partagées, les éclats de rire, le stress surmonté ensemble, et cette belle complicité jusqu'au bout. Je vous en suis profondément reconnaissante.

À toute ma famille,

Merci pour votre affection, vos encouragements et votre bienveillance tout au long de ce parcours.

Ce travail est le fruit de vos présences dans ma vie. Avec toute ma gratitude.

Tesnim



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

Ma famille, ma source de vie, d'amour et d'affection.

Particulièrement, Mes chers parents qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs

Mon grand-père que dieu ait pitié de lui, qui restera à jamais dans mon cœur.

J'aimerais qu'il soit avec moi pour me partager les plus beaux moments de ma vie.

Ma chère sœur Aroua et mes deux frères Noufel et Mohamed qui sont mon vrai soutien.

Ma sœur d'amour et ma plus chère copine AYAT Mouna, pour son encouragement, sa présence et son soutien moral.

Et sans oublier mes compagnons de parcours, Tesnim et Mehdi pour leurs patiences et leurs compréhensions tout au long de ce travail.

Rihem

ملخص

يهدف عملنا إلى عزل ملتهومات خاصة بسلالات بكتيرية مختلفة من مياه الصرف الصحي الخام والمعالجة، المجمعة من محطة معالجة مياه الصرف الصحي بالعلمة، وتنقيتها وزيادة عددها، وتوصيف نطاقات تحليلها ووصفها؛ بالإضافة إلى تقييم قدرة مياه الصرف الصحي على التنقية على مستوى المحطة. أعطت نتائج العزل التي أجريت ضد السلالات الثلاث في دراستنا نتائج تختلف بشكل كبير حسب السلالة المختبرة؛ بينما كانت احتمالية عزل فيروس للبكتيريا *Escherichia coli* SATE 56.5%، كانت لـ *Escherichia coli* A21E1R بنسبة 46.3%. بالنسبة للبكتيريا *Staphylococcus aureus*، لم يتمكن عزل أي ملتهمة؛ 0%. في حين اختفت هذه البكتيريا تدريجياً وبشكل عملي في أنابيب غسيل الكلى بعد أربعة أسابيع من الحضانة في أحواض العلاج.

الكلمات المفتاحية: ملتهومات، عزل، مياه الصرف الصحي، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، محطة معالجة المياه.

Résumé

L'objectif de notre travail est d'isoler des bactériophages spécifiques à différentes souches bactériennes à partir des eaux usées brutes et traitées prélevées de la station d'épuration d'EL-Eulma, de les purifier, les amplifier et de caractériser et décrire leurs plages de lyses ; ainsi qu'évaluer la capacité d'épuration des eaux usées au niveau de la station. Les résultats obtenus variaient considérablement selon la souche testée ; alors que pour *Escherichia coli* SATE la probabilité d'isoler un phage était 56.5%, pour *Escherichia coli* A21E1R, 46.3%. Pour *Staphylococcus aureus*, aucun phage n'a pu être isolé ; 0%. Alors que cette dernière bactérie a progressivement et pratiquement disparue dans les boudins de dialyse au bout de quatre semaines d'incubation dans les bassins de traitements.

Mots clés : Bactériophage ou phage, isolement, eaux usées, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, station d'épuration.

Abstract

The objective of our work is to isolate specific bacteriophages to different bacterial strains from raw and treated wastewater collected from a wastewater treatment plant in El-Eulma, to purify and amplify them, and to characterize and describe their lysis ranges; as well as to assess the self-purification capacity of wastewater at the plant level. The results varied considerably depending on the strain being tested; while for *Escherichia coli* SATE the probability of isolating a phage was 56.5%, for *Escherichia coli* A21E1R it was 46.3%. For *Staphylococcus aureus*, no phage could be isolated; 0%. This latter bacterium gradually and practically disappeared in the dialysis tubes after four weeks of incubation in the treatment pools.

Keywords: Bacteriophage or phage, isolation, wastewater, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, treatment plant.