

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie appliqué

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم البيولوجيا التطبيقية

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** biotechnologie

**Spécialité :** Biotechnologie et biothérapie

**N° d'ordre :**

**N° de série :**

Intitulé :

---

**Recherche et isolement des bactéries  
À partir des boues activées,  
Développement des aptitudes probiotiques**

---

**Présenté par :** SEFIANI NOUR EL IMANE

**Le 20/06/2022**

**CHERJAR NAHLA**

**Jury d'évaluation :**

**Président :** Dr. AJROUD M. (MCB, Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadreur :** Dr. FRAHTIA K. (MCA, Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur:** Dr. OUIBRAHIM A. (MCB, Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire  
2022 – 2023**

## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir guidé tout au long de notre vie, de nous avoir donné le courage et la patience pour surmonter tous les moments difficiles, et de nous avoir permis d'achever ce travail afin de pouvoir le mettre entre vos mains aujourd'hui.*

*Au terme de ce modeste travail, nous souhaitons adresser nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à sa réalisation et ont permis, par leur soutien et leurs conseils, de le mener à bien.*

*En premier lieu, nous tenons à remercier notre encadrant, Madame FRAHTIA Khalida, Maître de Conférences à l'Université des Frères Mentouri - Constantine1, pour la confiance qu'elle nous a accordée en acceptant d'encadrer ce travail ainsi que pour tous ses conseils et encouragements.*

*Aux membres du jury, qui ont consacré une partie importante de leurs temps à la lecture et à l'évaluation de ce travail.*

*Nous remercions tout particulièrement madame OUIBRAHIME Amira, Maître de Conférences à l'Université de Constantine 1, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de soutenance.*

*Toute notre gratitude va à monsieur ADJROUDE Moussa, Maître de Conférences à l'Université de Constantine 1, qui a aimablement accepté d'examiner ce travail.*

*Nous remercions monsieur KACEM CHAOUICHE Nourredine, pour sa patience et son soutien.*

*Nous remercions également madame REHAMNIA Baraa, pour son soutien et ses conseils, ainsi que madame GHORI Sanna pour son soutien moral et confiance, sans oublié tous nos professeurs.*

*Sans oublier tous les membres du laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM), qui nous ont aidé et offert des conditions de travail favorables.*

## **DEDICACE**

*Avant tout, je remercie Allah tout puissant qui m'a donné*

*La force et de m'avoir .Permis d'arriver à ce niveau.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A celle qui a veillé à mon bien être et m'a entouré de tout son amour et son affection, l'être le plus cher au monde et à mon cœur je suis très heureuse et fier de votre présence à mon coté  
ma mère **Nassira**.*

*A mon père **Mossbah**. L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la plus digne de mon estime et de mon respect.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu te préserve et procure santé et  
langue vie.*

*A mes chères et adorables sœurs : **Abir et khalida et Zineb**.*

*A mes très chères frères : **Mohammed cherif et Abed Rahim**.*

*A ma très chères tante **Sorya** pour leur amour et leur support continu, et à ses chères enfants  
**Khalil et Baraa**.*

*Sans oublier ma collègue dans ce travaille **Nahla** pour leur soutien moral, leur patience et  
leur compréhension tout au long de ce projet.*

*A tous mes collègue et spécialement A tous ceux qui par un mot m'ont donné la force de  
continuer.*

**Imane**

## **DEDICACE**

*Avant tout, je remercie Allah qui nous a aidés à élaborer ce  
Modeste travail.*

*Je dédie également mes très chers parents qui m'ont guidé durant les  
Moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et  
Ma soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin  
De me voir devenir ce que je suis, merci mes parents*

*A ma sœur **Asma** tu as toujours été près de moi, tu m'as toujours offert beaucoup de tendresse  
et d'attention et de folie pendant toute ma vie. Merci, adorable sœur, d'avoir montré tant de  
complaisance et de serviabilité à mon égard. Puisse Allah, le Très haut, t'accorder une vie  
heureuse et l'avenir prospère dont tu souhaites.*

*A mes chères sœurs, **Nada** et mon frère **Amar***

*A ma cher Amies proche : **Tariq Abbid** pour son grand support durant cette journée ca fait  
plaisir ton existence a ma vie*

*A toutes mes amies, en particulier : Kawthar, Jihan, Soulef, Anis, Takoua, Mounib et tout mes  
collègue*

**Nahla**

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

## **CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

1. Eaux usées.....	2
1.1. Origine.....	2
1.1.1. Origine domestique.....	2
1.1.2. Origine industrielle .....	3
1.1.3. Origine agricole.....	3
1.1.4. Origine pluviale.....	4
1.2. Importance des eaux usées .....	4
1.3. Composition des eaux usées.....	5
1.3.1. Microorganismes.....	5
1.3.1.1 Bactéries.....	5
1.3.2.2. Protozoaires.....	6
1.3.3.3. Virus.....	6
1.3.4.4. Helminthes.....	7
1.3.4.5. Champignons.....	8
1.3.2. Eléments traces.....	8
1.3.2.1. Métaux lourds.....	8
1.3.2.2. Eléments toxiques organiques.....	8
1.3.2.3. Substances nutritives.....	9
1.4. Procédés de traitement des eaux usées.....	9
1.4.1. Prétraitements .....	9

1.4.1.1. Dégrillage.....	9
1.4.1.2. Dessablage.....	10
1.4.1.3. Dégraissage-déshuilage.....	10
1.4.2. Traitement primaire.....	11
1.4.2.1. Procédés de décantation physique.....	11
1.4.2.2. Procédés de décantation chimique.....	11
1.4.3. Traitement secondaire (Traitement biologique).....	12
1.4.3.1. Technologie de traitement par des cultures bucériennes fixe.....	12
1.4.3.2. Technologie de traitement par des cultures bactériennes libre...	13
1.4.4. Traitement tertiaire.....	14
1.5. Procédé à boues activées.....	14
1.5.1. Définition des boues.....	14
1.5.2. Origine des boues.....	15
1.5.3. Caractéristiques des boues.....	15
1.5.3.1. Boues primaires (Boues fraîches).....	15
1.5.3.2. Boues secondaires (Boues biologiques).....	15
1.5.3.3. Boues physico-chimiques.....	15
1.5.3.4. Boues d'aération prolongée.....	16
1.5.3.5. Boues mixtes.....	16
1.5.4. Composition des boues.....	16
1.5.4.1. Matières organiques.....	17
1.5.4.2.Éléments fertilisants.....	17
1.5.4.3. Contaminants chimiques organiques et inorganiques.....	17
1.5.4.4. Micro-organismes pathogènes.....	17
1.5.5. Facteurs caractérisant la nature et la structure des boues.....	17

1.5.5.1. Facteurs caractérisant la nature des boues.....	17
1.5.5.2. Facteurs caractérisant la structure des boues.....	18
1.6. Mode de traitement des boues.....	18
1.6.1. Epaissement.....	18
1.6.2. Déshydratation.....	18
1.6.3. Séchage.....	19
2. Probiotiques.....	19
2. 1. Généralités sur les probiotiques .....	19
2.2. Principales espèces des bactéries à potentiel probiotique.....	20
2.2.1. Groupe des bactéries lactiques.....	20
2.2.2. Bifidobacteries.....	22
2.2.3. Bactéries non lactiques.....	23
2.3. Propriétés et critères de sélection des souches probiotiques.....	25
2.4. Effets bénéfiques sur la santé .....	26
2.4.1 Protection contre les pathogènes entériques notamment les infections à Helicobacter pylori .....	26
2.4.2. Prévention de la diarrhée à Clostridium difficile.....	27
2.4.3. Diarrhées associées aux antibiotiques.....	27
2.4.4. Réponse immunitaire .....	27
2.4.5. Prévention et traitement de l'encéphalopathie hépatique .....	27
2.4.6. Prévention du cancer .....	28
2.4.7. Intolérance au lactose .....	28
2.4.8. Maladie d'Alzheimer et probiotiques .....	28
2.5. Mécanismes d'action .....	28
2. 6. Influence probiotique sur la qualité des eaux usées et des boues.....	29

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

3.1 Présentation de Station d'épuration d'Oued el Athmania.....	30
3.1.1 Localisation de la STEP d'oued Athmania.....	30
3.1.2 Procédés de traitement .....	30
3.1.2.1 Prétraitement.....	30
3.1.2.2 Traitement biologique.....	31
3.1.2.3 Clarification.....	31
3.2 Collecte et traitement de l'échantillon.....	32
3.3 Isolement des bactéries du genre Bacillus.....	32
3.3.1 Dilution.....	32
3.3.2. Traitement thermique.....	33
3.3.3 Ensemencement.....	33
3.3.4 Purification.....	33
3.4 Identification des isolats bactériens à potentiel probiotique.....	33
3.4.1 Observation macroscopique.....	33
3.4.2. L'observation microscopique.....	34
3.4.2.1 Observation à l'état frais .....	34
3.4.2.2 Coloration de Gram.....	34
3.4.2.3 Coloration des endospores.....	34
3.4.3 Caractères biochimiques.....	35
3.4.3.1 Test catalase.....	35
3.4.3.2 Type respiratoire.....	35
3.4.3.3. Fermentations de quelques substrats carbonés en utilisant la galerie API 20 E .....	36



3.5 Evaluation de l'effet probiotique des isolats bactériens.....	37
3.5.1 Lécithines .....	37
3.5.2 Résistance à l'acidité gastrique .....	37
3.5.3 Propriétés de surface et adhérence cellulaire.....	38
3.5.3.1 Détermination de l'Auto-agrégation chez les isolats sélectionnés.....	38
3.5.3.2. Détermination de la Co-agrégation chez les isolats sélectionnés.....	38

### **CHAPITRE III : RESULTATS**

4.1. Isolement et identification des bactéries du genre Bacillus.....	39
4.2. Etude macroscopique.....	40
4.3- Etude microscopique .....	41
4.3.1- Observation à l'état frais .....	41
4.3.2. Aspect microscopique par coloration de Gram.....	43
4.3.2. Aspect microscopique par coloration de Spores.....	44
4.3.3. Tests biochimiques.....	44
4.3.3.1. Test de catalase.....	44
4.4.2- Type respiratoire.....	45
4.4.4. Fermentations de quelques substrats carbonés en utilisant la galerie API 20 E .....	45
4.4.5 Evaluation de l'effet probiotique des isolats bactériens.....	48
4.4.5.1. Test lécithinase.....	48
4.4.5.2. Résistance à l'acidité gastrique.....	48
4.4.5.3. Propriétés de surface et adhérence cellulaire.....	49
4.4.5.3.1. Auto-agrégation .....	49
4.4.5.3.2 Co-agrégation.....	49

**CHAPITRE IV : DISCUSSION**

**DISCUSSION .....50**

**CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....53**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**RESUMES**

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01: Les eaux usées domestiques .....</b>	<b>03</b>
<b>Figure 02: Schéma descriptif des étapes de prétraitement.....</b>	<b>10</b>
<b>Figure 03 : Le lagunage : phénomène identique à l’autoépuration .....</b>	<b>13</b>
<b>Figure 04 : Les étapes d’épuration.....</b>	<b>14</b>
<b>Figure 05 : Bactéries lactiques sous forme de bacilles (A), coques (B), bacilles arrondis(C) .....</b>	<b>21</b>
<b>Figure 06 : Bifidobacterium longum sous microscopie électronique.....</b>	<b>22</b>
<b>Figure 07: Bacillus subtilis, Bacillus cereus, sous microscope (Allemagne, 2023).....</b>	<b>23</b>
<b>Figure 08 : S. cerevisiae sous microscopie électronique .....</b>	<b>24</b>
<b>Tableau 09 : Lactobacillus rhamnosus GG balayag coloré micrographie électronique.....</b>	<b>27</b>
<b>Figure10: Mécanismes d’action probiotiques.....</b>	<b>28</b>
<b>Figure11: Localisation de STEP d’Oued Athmania.....</b>	<b>30</b>
<b>Figure12 : Pourcentages d’outo-agrégation et co-agrégation des isolats sélectionnés.....</b>	<b>49</b>

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau 01: Proportion des volumes rejetés pour chacune des activités domestiques polluantes.....</b>	<b>02</b>
<b>Tableau 02: Les bactéries pathogènes des eaux usée.....</b>	<b>06</b>
<b>Tableau 03: L'effet des virus des eaux usées.....</b>	<b>07</b>
<b>Tableau 04 : Agents de coagulation .....</b>	<b>11</b>
<b>Tableau 05: Les différents types des boues selon leur origine et leur composition.....</b>	<b>16</b>
<b>Tableau 06 : Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques Microorganismes considérés comme probiotiques.....</b>	<b>25</b>
<b>Tableau 07: Principaux critères de sélection des souches probiotiques.....</b>	<b>26</b>
<b>Tableau 08 : Substrats spécifiques de la galerie API 20 E .....</b>	<b>36</b>
<b>Tableau 09: Isolats bactériens obtenus à partir de différents sites.....</b>	<b>39</b>
<b>Tableau 10 : Caractères macroscopique des isolats obtenus.....</b>	<b>41</b>
<b>Tableau 11 : Aspect microscopique des isolats bactériens.....</b>	<b>43</b>
<b>Tableau 12 : Utilisation des différents substrats par les 10 isolats obtenus..</b>	<b>46</b>
<b>Tableau 13 : Tableau récapitulatif des différent résultats d'identification des isolats obtenus.....</b>	<b>47</b>

## **LISTE DES PHOTOS**

<b>Photo 01: Les eaux usées industrielles.....</b>	<b>03</b>
<b>Photo 02: Les eaux agricoles.....</b>	<b>04</b>
<b>Photo 03: Dégrilleur.....</b>	<b>30</b>
<b>Photo 04: Désableur, déshuileur.....</b>	<b>31</b>
<b>Photo 05: Bassin d'aération.....</b>	<b>31</b>
<b>Photo 06: Clarification.....</b>	<b>32</b>
<b>Photo 07: Sites d'échantillonnage.....</b>	<b>32</b>
<b>Photo 08: Aspect macroscopique des 10 isolats bactériens.....</b>	<b>40</b>
<b>Photo 09: Observation microscopique à l'état frais des isolats bactériens (Grossissement X 100).....</b>	<b>42</b>
<b>Photo 10: Coloration de Gram des 10 isolats .....</b>	<b>43</b>
<b>Photo 11: Test des endospores (Grossissement X 40).....</b>	<b>44</b>
<b>Photo 12: Résultats du test Catalase.....</b>	<b>44</b>
<b>Photo 13: Test de type respiratoire.....</b>	<b>45</b>
<b>Photo 14: Tests API 20E.....</b>	<b>45</b>
<b>Photo 15: Résultats de test lécithinase.....</b>	<b>48</b>
<b>Photo 16: Test du pH sur bouillon nutritif à pH 3.5.....</b>	<b>49</b>

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**D.C.O.** : Demande chimique en oxygène.

**F.A.O** : Organisation des Etats-Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.

**I.S.A.P.P.** : Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et les prébiotiques.

**LAB** : Les bactéries lactiques.

**MA** : Maladie d'Alzheimer.

**O.M.S.** : Organisation Mondiale de la Santé.

**O.N.A.** : Office National d'Assainissement.

**O.N.U.** : Organisation des Nations Unies.

**STEP** : Station d'épuration.

**°C** : Degré Celsius.

# INTRODUCTION

*« La vie n'est pas possible sans bactéries. »*

**Louis Pasteur, 1885**

## INTRODUCTION

Au cœur de notre organisme dans l'intestin travaillent, dans l'ombre, 24 h/24, 100 000 milliards de bactéries. Grâce à cette flore intestinale, le corps digère, produit des vitamines, de substances antimicrobiennes...Un monde incroyable organisé en écosystème parfaitement équilibré. Lorsqu'il se dérègle à cause du stress, d'une mauvaise alimentation, d'un traitement médical, rien ne va plus : infections à répétition, mycoses vaginales, candidoses, troubles métaboliques (surpoids, diabète...), fatigue et déprime inexplicables.

Donc c'est quoi la solution ? Les probiotiques, des bactéries amies, qui rééquilibrent notre flore pour retrouver santé et bien-être, le but de ce travail est la recherche de probiotiques qui représente un domaine de recherche intéressant...En 1993, 27 études avaient été menées sur les probiotiques, ces désormais célèbres bactéries amies. Aujourd'hui près de 10 000 publications répertoriées dans *PubMed/Medline* (Dont 1 257 en 2013 contre 1 en 1973), site internet aussi sérieux qu'exhaustif regroupant l'ensemble des publications médicales (**DANIÈLE, 2014**).

Au cours des années précédentes, de nouveaux probiotiques ont été découverts dans des environnements inattendus, comme la peau ou les boues activées. Ces dernières qui constituent un milieu plein de micro-organismes qui n'ont pas été identifiés auparavant, sont aussi un milieu potentiel pour la multiplication des probiotiques.

En Algérie, le procédé d'épuration par boues activées est le plus utilisé pour traiter les eaux usées urbaines. Ce procédé a des performances épuratrices et une fiabilité très importante, surtout vis-à-vis de la pollution organique (**Lakhadri et al., 2013**).

Ce travail a l'ambition de rechercher des microorganismes développant une activité probiotique à partir des boues activées issues des stations d'épuration des eaux usées. Pour ce faire, plusieurs approches sont développées tels :

- Isolement des bactéries du genre *Bacillus* ;
- Identification des isolats bactériens à potentiel probiotique ;
- Evaluation de l'effet probiotique des isolats bactériens sélectionnés en particulier, l'étude lécithines, la résistance à l'acidité gastrique et les propriétés de surface et adhérence cellulaire : détermination de l'auto-agrégation et la co-agrégation chez les isolats sélectionnés.



**CHAPITRE I :**  
**Revue bibliographique**

## CHAPITRE I : Revue bibliographique

### 1. Eaux usées

Une eau est dite usée ou polluée une fois qu'elle perd ses caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques (**Kraa, 2017**). Les eaux usées, ou les eaux résiduaires, sont des eaux chargées de résidus, solubles ou non provenant de l'activité humaine industrielle ou agricole (**Benelmouaz, 2015**).

#### 1.1. Origine

Les eaux usées résultent de la pollution tant physico-chimique que bactériologique des eaux de consommation de bonne qualité, des activités humaines (Qu'elles soient domestiques, industrielles ou agricoles) et/ou des ruissellements. Suivant l'origine des substances polluantes, on peut distinguer (**Saadi, 2013**).

##### 1.1.1. Origine domestique

Les eaux usées domestiques comprennent les eaux ménagères (Eaux de toilette, de lessive, de cuisine) et les eaux vannes (Urines et matières fécales) dans le système dit « tout-à-l'égout. Les eaux usées domestiques contiennent des matières minérales et des matières organiques. Les matières minérales (Chlorures, phosphates, sulfates, etc.) et les matières organiques constituées de composés ternaires, tels que les sucres et les graisses (Formés de carbone, oxygène et hydrogène, mais aussi d'azote) (**BahaetBensari, 2014**).

A ces eaux fortement polluées s'ajoutent (Selon le type de réseau séparatif ou pseudo-séparatif, ou unitaire) des eaux moins polluées qui peuvent provenir des toitures, de drainage, de cours, de sous-sol et de garage (**Bakiri, 2007**).

**Tableau 1:** Proportion des volumes rejetés pour chacune des activités domestiques polluantes (**Rejsek, 2002**).

Activité domestique	Volume rejeté (%)
Cuisine : évier	3%
Lave-vaisselle	13%
Lave-linge	13%
Salle de bains	44%
Chasse d'eau	26%

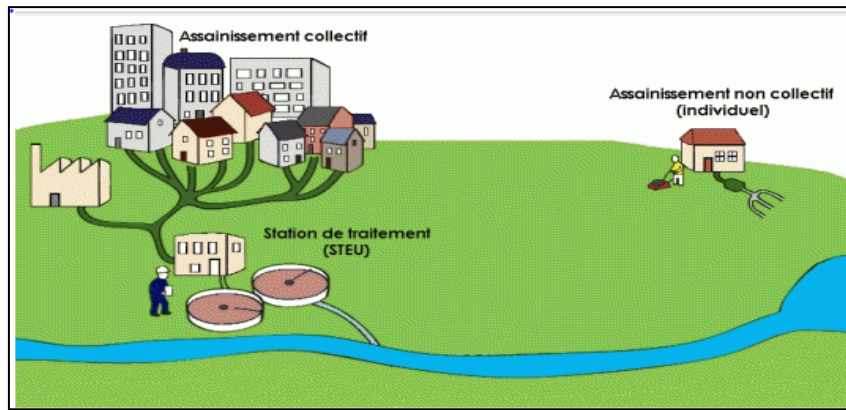


Figure 1: Les eaux usées domestiques (L'association UFC-Que, 2022).

### 1.1.2. Origine industrielle

La composition des eaux résiduaires industrielles présente une extrême diversité selon le type d'industrie concernée (Chimique, pétrochimique, Pharmaceutique, minière, sidérurgique, mécanique, électronique, textile, agroalimentaire, pâtes et papiers, traitement de surface métalliques...) et au sein d'une industrie donnée, de notables différences de composition se distinguent en fonction de la nature de l'effluent (Effluent de fabrication, bains de décapage, eaux de lavage, purges d'eaux de chaudières ou de circuits de refroidissement, eaux vannes...)(Rodier,2009) (Photo.01).



Photo 1: Les eaux usées industrielle (DZ Entreprise, 2016).

### 1.1.3. Origine agricole

L'agriculture est une source de pollution des eaux non négligeable car elle apporte les engrais et les pesticides. Elle est la cause essentielle des pollutions diffuses (Baha et Bensari,

2014).

Les eaux agricoles issues de terre cultivées chargés d'engrais nitrates et phosphates, sous une forme ionique ou en quantité telle, qu'ils ne seraient pas finalement retenus par le sol et assimilés par les plantes, conduisent par ruissellement à un enrichissement en matières azotées ou phosphatées des nappes les plus superficielles et des eaux des cours d'eau ou des retenues (Baha et Bensari, 2014). (Photo.02 ),



*PHOTO 2 : Les eaux agricoles (Marial, 2022).*

#### 1.1.4. Origine pluviale

Comprenant les eaux des pluies, les eaux de lavage et les eaux de drainage qui entraînent toutes sortes de déchets minéraux et organiques (Saadi, 2013).

#### 1.2. Importance des eaux usées

L'O.N.U. s'est fixé pour objectif l'approvisionnement en eau pure et l'assainissement pour tous les individus de la planète en 1990.

Elle espérait ainsi améliorer les conditions de vie d'environ deux milliards de personnes. Dans plusieurs cas, cette amélioration devrait se traduire par une réduction importante du nombre de malades. L'O.M.S. estime que 80% des maladies qui affectent la population mondiale sont directement associées à l'eau (Exemple: La gastro-entérite, paludisme, salmonellose). On estime que les eaux polluées sont responsables de 50% des cas de mortalité infantile (Desjardins, 1997).

L'assainissement, autrement appelé dépollution, a pour fonction de préserver la qualité de la vie en débarrassant les eaux usées de leur pollution, avant leur retour dans le milieu naturel. L'apport au quotidien du service d'assainissement est donc considérable. Il a un rôle important dans :

- La protection sanitaire des populations. Grâce au traitement des eaux usées, les rivières ne se transforment pas en égouts. Avec des traitements encore plus complets, les eaux de baignade sont protégées de la présence de virus ou de bactéries qui peuvent propager des maladies.
- Contribution décisive au maintien de la qualité de l'environnement et des activités liées à l'eau, qu'il s'agisse de tourisme (Sites, rivières, plans d'eau, lieux de baignade, de pêche, etc.) ou de pisciculture, sans oublier que l'agriculture et l'industrie ont également besoin d'eau pour assurer leur développement (**Emilie, 2002**).

### **1.3. Composition des eaux usées**

La composition des eaux usées est variable en fonction de leur origine .Elles peuvent contenir de nombreuses substances sous forme solide ou dissoute ainsi que de nombreux micro-organismes (**Belaid, 2010**).

#### **1.3.1. Microorganismes**

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale accompagnée d'organismes pathogènes peut être classée en quatre grands groupes : les bactéries, les virus, les protozoaires, les helminthes et les champignons (**Belaid, 2010**).

##### **1.3.1.1. Bactéries**

Les bactéries sont les microorganismes les plus communément rencontrés dans les eaux usées. La concentration en bactéries pathogènes est de l'ordre de  $10^4$  germes L<sup>-1</sup>. Parmi les plus détectées sont retrouvées les *salmonellas*, dont celles responsables de la typhoïde, la paratyphoïde des troubles intestinaux. Les coliformes thermo tolérants sont des germes témoins de contamination fécale communément utilisés pour contrôler la qualité relative d'une eau (**Belaid, 2010**).

**Tableau2: Bactéries pathogènes des eaux usées (Baumontetal., 2009).**

Agent pathogène	Symptômes, Maladie	Nombre/litre d'eau usée	Voie de contaminations principales
<i>Salmonella</i>	Typhoïde Paratyphoïde Salmonellose	23 à 80000	Ingestion
<i>Shigella</i>	Dysenterie bacillaire	10 à 10000	Ingestion
<i>E. coli</i>	Gastro-entérite		Ingestion
<i>Yersinia</i>	Gastro-entérite		Ingestion
<i>Campylobacter</i>	Gastro-entérite	37000	Ingestion
<i>Vibrio cholera</i>	Choléra	100 à 100000	Ingestion
<i>Leptospira</i>	Leptospirose		Cutanée/inhalation/ingestion
<i>Legionella</i>	Légionellose		Inhalation
<i>Mycobacterium</i>	Tuberculose		Inhalation

### 1.3.1.2. Protozoaires

Au cours de leur cycle vital, les protozoaires passent par une forme de résistance, les kystes, qui peuvent être véhiculés par les eaux résiduaires. Ces parasites sont très persistants. Ainsi, selon les conditions du milieu, ces organismes peuvent survivre plusieurs semaines voire même plusieurs années. Plusieurs protozoaires pathogènes ont été identifiés dans les eaux usées. Parmi les plus importants du point de vue sanitaire, on cite **Entamoeba histolytica**, responsable de la dysenterie amibienne, **Giardia lamblia** et **Cryptosporidium parvum** (Belaid, 2010).

### 1.3.1.3. Virus

Les virus sont des parasites intracellulaires obligés qui ne peuvent se multiplier que dans une cellule hôte, leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées restent difficiles (Belaid, 2010).

Les virus entériques sont ceux qui se multiplient dans le trajet intestinal.

Parmi les virus entériques humains les plus nombreux on cite les entérovirus, les rotavirus, les rétrovirus, les adénovirus et le virus de l'Hépatite A. Les virus sont plus difficiles à éliminer que les bactéries classiques couramment utilisées comme indicateurs de la qualité

bactériologique des eaux. De plus, les auteurs ont détecté plusieurs virus dans les milieux récepteurs recevant des effluents traités tels que les rivières et les étangs (Belaid, 2010).

**Tableau3:** L'effet des virus des eaux usées (Baumontetal.,2009).

Agent pathogène	Symptômes Maladie	Nombre/litre d'eau usée	VoiesdecontaminationPrincipale
Virusdel'hépatiteA	HépatiteA		Ingestion
Virusdel'hépatite E			
Rotavirus	Vomissement,diarrhea	400 à85000	Ingestion
VirusdeNorwalk	Vomissement,diarrhea		Ingestion
Adénovirus	Maladie respiratoireConjonctivite, Vomissement,diarrhée.		Ingestion
Astrovirus	Vomissement,diarrhea		Ingestion
Calicivirus	Vomissement,diarrhea		Ingestion
Coronavirus	Vomissement,diarrhea		Ingestion/Inhalation
Réovirus	Affectionrespiratoire Bénigne etdiarrhée.		Ingestion
Entérovirus			
Poliovirus	Paralyse, méningite,fièvre.	182 à492000	Ingestion
Coxsackie A	Méningite,fièvre, Pharyngite, maladierespiratoire		Ingestion
Coxsackie B	Myocardite, anomaliecongénitale ducœur,éruption, cutanée,fièvre,maladie ,respiratoire,méningite		Ingestion
Echovirus	Méningite,rash,encéphalite,maladie ,respiratoire,diarrhée,fièvre.		Ingestion

#### 1.3.1.4. Helminthes

Les helminthes sont des parasites intestinaux, fréquemment rencontrés dans les eaux résiduaires. Dans les eaux usées urbaines, le nombre d'œufs d'helminthes peut être évalué entre 10 et 103 germes L-1. Beaucoup de ces helminthes ont des cycles de vie complexes comprenant un passage obligé par un hôte intermédiaire (Belaid, 2010).

Les œufs et les larves sont résistants dans l'environnement et le risque lié à leur présence est à considérer pour le traitement et la réutilisation des eaux résiduaires.

Les helminthes pathogènes rencontrés dans les eaux usées sont : *Ascaris lumbricades*, *Oxyuris vermicularis*, *Trichurist richuria* et *Taenias aginata*(Belaid, 2010).



### **1.3.1.5. Champignons**

Les champignons constituent un groupe d'organismes extrêmement vaste (De l'ordre de 1.5 millions d'espèces dont 69000 identifiées) et très diversifié. On les rencontre dans de multiples habitats terrestres ou aquatiques. La majorité de ces microorganismes sont saprophytes, d'autres au contraire sont parasites de l'Homme, des animaux et des plantes. Dotés de propriétés lytiques importantes, qui en font des agents de dégradation dangereux mais par fois des alliés utiles (Production d'enzymes), les champignons jouent un rôle important dans l'équilibre biologique (**Belaid, 2010**).

### **1.3.2. Eléments traces**

Leurs effets sanitaires à long terme sont moins connus, notamment leur implication potentielle dans la survenue des cancers (**Ouakkal et Tamrabet, 2019**). Les trois voies de contamination que l'on retrouve classiquement sont la contamination par ingestion, par inhalation et par voie cutanée (**Ouakkal et Tamrabet, 2019**).

#### **1.3.2.1. Métaux lourds**

Les métaux lourds que l'on trouve dans les eaux usées urbaines sont extrêmement nombreux. Les plus abondants sont le fer, le zinc, le cuivre et le plomb. Les autres métaux (Manganèse, aluminium, chrome, arsenic, sélénium, mercure, cadmium, molybdène, nickel, etc...) sont présents à l'état de traces (**Ouakkal et Tamrabet, 2019**).

Leur origine est multiple : ils proviennent «des produits consommés au sens large par la population, de la corrosion des matériaux des réseaux de distribution d'eau et d'assainissement, des eaux pluviales dans le cas de réseau unitaire, des activités de service (santé, automobile) et éventuellement de rejets industriels » (**Ouakkal et Tamrabet, 2019**).

#### **1.3.2.2. Eléments toxiques organiques**

Les eaux usées contiennent des composés chimiques toxiques très persistants et qui ont une grande lipophilicité. Parmi ces composés, on peut citer les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP), les alkyl-phénols, les chlorophénols, les phtalates, les pesticides et les résidus pharmaceutiques actifs. D'après **Ouakkal et Tamrabet(2019)**, il avère que les stations d'épuration sont des sources potentielles des décès produits toxiques.



### 1.3.2.3. Substances nutritives

Les nutriments se trouvent en grande quantité dans l'eau usée et constituent ainsi un paramètre de qualité pour la valorisation de ces eaux en agriculture et en gestion des paysages **(Ouakkal et Tamrabet, 2019)**.

Les éléments les plus fréquents dans les eaux usées sont l'azote, le phosphore et parfois le potassium, le zinc et le soufre, mais en proportions très variables que ce soit, dans les eaux usées épurées ou brutes **(Ouakkal et Tamrabet, 2019)**.

## 1.4. Procédés de traitements des eaux usées

Selon la nature et l'importance de la pollution, différents procédés peuvent être mis en œuvre pour l'épuration des eaux résiduaires en fonction des caractéristiques de celles-ci et du degré d'épuration désiré pour qu'elles soient conformes avec les exigences du milieu récepteur **(Degremont, 1978)**.

### 1.4.1. Prétraitements

Les dispositifs de prétraitement physique sont présents dans toutes les stations d'épuration **(Degremont, 1978)**.

Ils ont pour but d'éliminer les éléments solides ou les particuliers les plus grossiers. Ces prétraitements constitueront une première étape très importante pour assurer un traitement efficace des eaux usées. Ainsi, trois principaux types peuvent être distingués **(Degremont, 1978)**.

#### 1.4.1.1. Dégrillage

Au cours du dégrillage, les eaux usées passent au travers d'une grille dont les barreaux, plus ou moins espacés, retiennent les matières les plus volumineuses transportées par l'eau brute, qui pourraient nuire à l'efficacité des traitements suivants ou en compliquer leur exécution **(Degremont,1978)**.Le dégrillage, premier poste de traitement permet de :

- Protéger les ouvrages aval contre l'arrivée de gros objets susceptibles de provoquer des bouchages dans les différentes unités de l'installation **(Degremont, 1978)**.
- Séparer et évacuer facilement les matières volumineuses charriées par l'eau brute, qui pourraient nuire à l'efficacité des traitements suivants ou en compliquer l'exécution **(Degremont, 1978)**.

L'efficacité dépend de l'écartement entre barreaux des grilles de mailles différentes. En fonction de ce dernier, on peut distinguer les opérations telles que le prédégrillage, le

dégrillage moyen, le dégrillage fin et le tamisage. Pour l'écartement de 30 à 100 mm des barreaux des grilles, on parle de prédégrillage. Cette opération est suivie d'un dégrillage moyen avec des barreaux distants de 10 à 30 mm, et enfin d'un dégrillage fin dont les barreaux sont séparés de moins de 10 mm. Les dégrilleurs peuvent être de position verticale ou bien inclinée de 60° à 80° sur l'horizontale pour une meilleure efficacité (Mampuya, 2020).

#### 1.4.1.2. Dessablage

Le dessablage a pour but d'extraire des eaux brutes, graviers, sables et particules minérales plus ou moins fines, de façon à éviter les dépôts dans les canaux et conduits tout en protégeant pompes et autres appareils contre l'abrasion afin d'éviter de perturber les stades de traitement suivants (Degremont, 1978).

Selon le même auteur, le domaine usuel du dessablage porte sur les particules de granulométrie égale ou supérieure à 200 mm; une granulométrie inférieure est en général du ressort du débouage ou de la décantation.

#### 1.4.1.3. Dégraissage et déshuilage

Les opérations de dégraissage et de déshuilage consistent en une séparation de produits de densité légèrement inférieure à l'eau, par effet de flottation naturelle ou assistée, dans une enceinte liquide de volume suffisant (Degremont, 1978).

**-Dégraissage** : Opération de séparation liquide-solide réalisant un compromis entre une rétention maximale des graisses et un dépôt minimal de boues de fond fermentescibles.

Si les huiles minérales et les hydrocarbures légers sont présents à l'état de traces, leur séparation se fait alors par adsorption et/ou filtration (Degremont, 1978).

**-Déshuilage** : Opération de séparation liquide-liquide, habituellement réservée à l'élimination d'huiles, en particulier dans les industries du pétrole (Mais normalement absentes des ERU, leur rejet en égouttant interdit)(Degremont, 1978).



Figure 2: Schéma descriptif des étapes de prétraitement (Degremont, 1995).

### 1.4.2. Traitement primaire (traitement physico-chimique)

Le traitement primaire est une séparation physique liquide-solide dont l'objectif est de retenir le maximum de matière en suspension présentes dans les eaux usées (**Boukerroucha, 2011**).

#### 1.4.2.1. Procédés de décantation physique

**-Décantation :** Permet d'éliminer les matières en suspension décantables en deux heures. Par L'utilisation de réactifs chimiques pour éliminer des particules plus fines. Ce traitement permet donc essentiellement l'élimination de la pollution particulaire et d'une partie de la pollution organique sous forme particulaire (De l'ordre de 65 à 80% de la DCO) (**Rejsek, 2002**).

**- Flottation :** Procédés de flottation principalement utilisé dans le traitement des eaux résiduaires industrielles (Elimination des MES) pour l'élimination des graisses au niveau du prétraitement ou encore pour la concentration des boues biologiques (**Grosclaude, 1999**).

#### 1.4.2.2. Procédés de décantation chimique

**-Coagulation :** Utilisée pour agglomérer des colloïdes et des particules très petites qui sédimentent difficilement comme les MES. L'ajout des agents chimiques, cette technique comporte une première phase d'adjonction d'un réactif qui provoque l'agglomération des particules en suspension, puis une accélération de leur chute au fond de l'ouvrage (**Edeline, 1992**).

*Tableau 4 : Agents de coagulation (Desjadins, 1997).*

Produit	Formule chimique
Sulfate d'alumine	$Al_2(SO_4)_3$
Sulfate de fer	$FeSO_4$
Aluminate de soude	$NaAlO_2$
La chaux	$Ca(OH)_2$

**-Floculation** (Niveau des particules plus grosses) : Ces processus sont considérés comme des traitements préparatoires (**Edeline, 1992**).

D'après **Mouchet (2000)**, la floculation est favorisée par :

- Une coagulation préalable aussi parfaite que possible ;
- Une augmentation de la quantité du floc dans l'eau ;

- Un brassage homogène et lent pour tout le volume d'eau ;
- L'emploi de certains produits appelés floculant ou adjuvant de coagulation.

### 1.4.3. Traitement secondaires (ou traitement biologique)

Le traitement biologique des eaux usées est le procédé qui permet la dégradation des polluants grâce à l'action de micro-organismes (**Rejsek, 2002**). L'épuration s'effectue par voie aérobie ou anaérobie.

**-Traitement aérobie :** En présence d'oxygène, les bactéries aérobies dégradent les polluants par des réactions d'oxydation (**Rerland, 2001**).

**-Traitement anaérobie :** En absence d'oxygène, les bactéries anaérobies assurent la décomposition des polluants par fermentation (**Hadj-Sadok, 1999**).

#### 1.4.3.1. Technologie de traitement par des cultures bactériennes fixes

Le traitement par des cultures bactériennes fixes regroupe tous les procédés où la biomasse épuratrice est accrochée sur un support solide à travers l'eau à traiter (**Gaid, 1993**).

Il existe trois types de procédés utilisés à savoir : lits bactériens, disques biologiques et boues activées (**Mimeche, 2014**).

- **Disques biologiques :** le support est constitué par des disques parallèles régulièrement espacés sur un axe horizontal, tournant à faible vitesse et immergés sur la moitié de leur hauteur. Ce mouvement induit une oxygénation de la culture pendant la période d'immersion. La profondeur généralement est de deux mètres et la vitesse est optimale. Les micro-organismes se développent et forment un film biologique épurateur à la surface des disques. Les disques étant semi immergés, leur rotation permet l'oxygénation de la biomasse fixée (**Mimeche, 2014**).
- **Lit bactérien :** Le principe de fonctionnement d'un lit bactérien consiste à faire ruisseler les eaux usées, préalablement décantées sur une masse de matériaux poreux ou caverneux qui sert de support aux micro-organismes (bactéries) épurateurs qui forment un feutrage ou un film plus ou moins épais, sous lequel une couche anaérobie peut se développer si son épaisseur est importante. Les eaux à traiter ruissellent à la surface de la pellicule biologique qui prolifère sur le support, celles-ci renferment une forte concentration de bactéries et de champignons. Ces organismes absorbent et métabolisent la matière organique de l'effluent et s'appauvrissent progressivement au cours de son trajet (**Mimeche, 2014**).

- **Boues activées** : C'est le procédé le plus répandu actuellement pour l'épuration des eaux résiduaires urbaines des petites, moyennes ou grandes collectivités (Mimeche, 2014).

Le procédé à boues activées est un système en continu dans lequel des micro-organismes sont mis en contact avec des eaux usées renfermant des matières biodégradables pendant un temps suffisant. L'oxygénation est fournie en quantités suffisantes par des aérateurs. Ainsi, dans le bassin d'aération, en présence d'oxygène, les micro-organismes vont se développer et se reproduire aux dépens des matières biodégradables formant ainsi des flocons décantables, orientés par la suite vers un clarificateur. A la sortie, une eau traitée et des boues seront produites. Une partie de ces boues sera expédiée vers les organes de traitement de boues et l'autre partie réintroduite dans l'aérateur (Mimeche, 2014).

#### 1.4.3.2. Technologie de traitement par cultures bactériennes libres

**-Lagunage** : Un traitement par lagunage comprend en général deux types de bassins. Le bassin anaérobie permet de diminuer la charge en matière organique. L'anaérobiose est obtenue en apportant un effluent très chargé en matière organique. Dans ces lagunes, une profondeur importante est en principe un élément favorable au processus (Mimeche, 2014). Ce bassin n'est applicable que sur des effluents à forte concentration et le plus souvent, à titre de prétraitement, avant un deuxième stade d'épuration de type aérobie surtout dans les pays à climat chaud où le terrain est disponible à coût raisonnable (Mimeche, 2014).

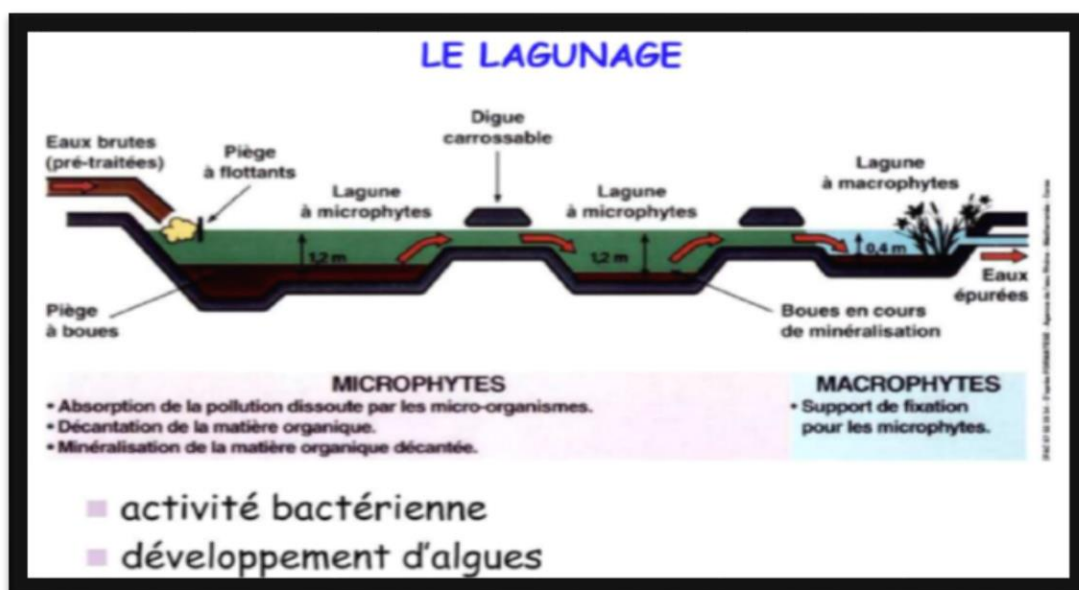


Figure 3 : Lagunage : phénomène identique à l'autoépuration (Veolia Eau, 2008, modifiée).

**-Filtration/Percolation** : Les techniques de filtration/percolation permettent l'élimination des « gros » microorganismes (Protozoaires et helminthes) par filtration/adsorption au début du massif filtrant. L'élimination des virus et des bactéries est fonction du milieu poreux (Mimeche, 2014).

#### 1.4.4. Traitement tertiaire

Les techniques d'épuration, même les plus sévères, laissent passer dans l'eau épurée des matières organiques difficilement biodégradables et échappent à la meilleure décantation. Ainsi même après un traitement secondaire l'eau véhicule presque toujours des microorganismes et des micropolluants. Si une éventuelle réutilisation de cette eau est envisagée, il convient par conséquent d'utiliser des procédés d'élimination de cette pollution résiduelle. On parlera donc de corrections chimiques ce qui permettra de donner à l'eau une qualité meilleure pour sa réutilisation (Mimeche, 2014).

La principale méthode utilisée est la désinfection par le chlore, qui doit être appliquée avec des doses très fortes et des temps de contact longs. Mais il convient de signaler suite à cette opération, des effets toxiques pour la vie aquatique peuvent être formés, il faut donc procéder à une opération de déchloration avant le rejet (Mimeche, 2014).

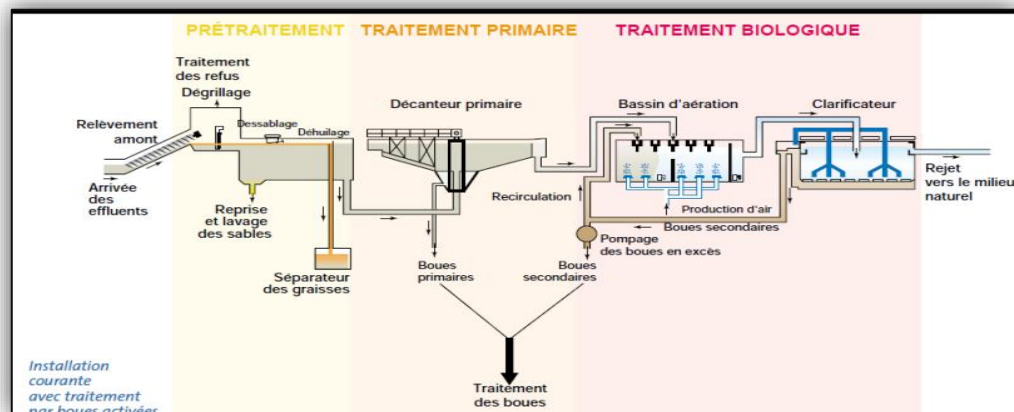


Figure 04: Les étapes d'épuration (Bakiri, 2007).

## 1.5. Procédé à boue activées

### 1.5.1. Définition des boues

Les éléments polluants et leurs produits de transformation retirés de la phase liquide au cours de tout traitement d'eau, quelle qu'en soit la nature, se trouvent finalement rassemblés dans la très grande majorité des cas dans des suspensions plus ou moins concentrées dénommées "boues" (Degremont, 1978).

### **1.5.2. Origine des boues**

Les boues d'épuration peuvent être d'origine primaire, secondaire où sont digérées selon l'étape de traitement. Les types de processus à employer dans une chaîne de traitement dépendent de la qualité de l'eau usée à traiter et du taux d'élimination des polluants envisagés. Ces procédés de traitement génèrent des boues d'épuration (**Tsiorifitiavana et Rahajaharimanana, 2013**).

### **1.5.3. Caractéristique des boues**

La nature des boues produites par une station d'épuration dépend de plusieurs facteurs tel que le type de séparation de boues utilisé, le procédé de traitement qui est en fonction de la taille du système de traitement des effluents et de leur caractéristiques d'origine (**Soufiya et Ait Ayane, 2009**). Ainsi, on distingue différents types de boues :

#### **1.5.3.1. Boues primaires (Boues fraîches)**

Elles sont les résultats du traitement primaire des effluents produits par la décantation primaire qui est une simple décantation des matières en suspension (MES) contenues dans les eaux usées (**Canler et Perret, 2013**). Ces boues correspondent à la pollution particulaire directement décantable. Elles sont produites par les industries de la cellulose, les industries de traitement des métaux, des minerais, les industries agroalimentaires générant des déchets fibreux (**Jardé, 2002**).

#### **1.5.3.2. Boues secondaires (Boues biologiques)**

Ce sont des boues produites d'un traitement bactérien. Elles sont riches en matières organiques et sont essentiellement formées par les résidus de bactéries "cultivées" dans les ouvrages d'épuration (**Canler et Perret, 2013**). Les boues biologiques issues d'un bassin aéré ou d'une cuve anaérobie des industries chimiques et pharmaceutiques, agroalimentaires (laiteries, boissons...), sont plus stabilisées que les boues primaires avec 6 à 8% de matières sèches (**Jardé, 2002**).

#### **1.5.3.3. Boues physico-chimiques**

Les boues physico-chimiques sont proches des boues primaires, mais contiennent en plus certains produits flocculant. Durant le traitement de l'eau usée, il a été rajouté un réactif comme les sels de fer ou d'aluminium et autres agents flocculant pour agglomérer



Les fines particules et améliorer la décantation (**Canler et Perret, 2013**). Ces boues peuvent donc présenter certaines similitudes avec des boues d'eau potable (**Soufiya et Ait Ayane, 2009**).

#### 1.5.3.4. Boues d'aération prolongée

Elles sont obtenues sans décantation primaire avec des matières polluantes intensivement aérées. Les boues sont peu concentrées, moins organiques et donc moins susceptibles de produire des nuisances (**Canler et Perret, 2013**).

#### 1.5.3.5. Boues mixtes

C'est le mélange des boues biologiques et des boues primaires. Elles existent au niveau des STEP (Station de traitement des eaux polluées) dotées d'une filière de traitement complète. Leur aptitude à la concentration par rapport aux boues biologiques est améliorée lors d'ajout de boues primaires (**Gaëlle, 2004**). On peut envisager des traitements séparés des deux types de boues (**Canler et Perret, 2013**).

*Tableau 5: Différents types des boues selon leur origine et leur composition (Emilie, 2002).*

Type de boue	Boues primaires	Boues biologiques (boues secondaire ou boues activées)	Boues mixtes	Boues physico-chimiques
<b>Origine</b>	Traitement primaire par décantation	Traitement biologique secondaire	Traitement primaire et secondaire	Décantation après traitement avec un réactif
<b>Composition</b>	Matière inorganique	Composés organiques avec un petit pourcentage de composés inorganiques	Mélange de boues primaires et de boues biologiques	Mélange des réactifs chimiques et des boues
<b>Siccité</b>	Couleur grise siccité 5%	Boue granulaire, de couleur brun-jaunâtre, pulvérulente et de décantation difficile siccité 1-2%	Siccité 5%	Siccité 4-5%

#### 1.5.4. Composition des boues

La composition exacte des boues varie en fonction de l'origine des eaux résiduaire, du type de traitement et de conditionnement pratiqué dans la station d'épuration (**Amir, 2005**).



#### **1.5.4.1. Matières organiques**

La concentration en matière organique peut varier de 30 à 80 % dans les boues. Elle est constituée de matières particulaires qui sont des lipides, des polysaccharides, des protéines et des acides aminés, de la lignine, ainsi que des produits de métabolisation et des corps microbiens résultant des traitements biologique (**Amir, 2005**).

#### **1.5.4.2.Éléments fertilisants**

Selon la dose appliquée, les boues peuvent couvrir, en partie ou en totalité, les besoins des cultures en azote, en phosphore, en magnésium, en calcium et en soufre ou peuvent aussi corriger des carences à l'exception du potassium. Les éléments en traces tels que le cuivre, zinc, le chrome et le nickel présents dans les boues sont aussi indispensables au développement des végétaux et des animaux (**Amir, 2005**).

#### **1.5.4.3. Contaminants chimiques organiques et inorganiques**

Ces mêmes éléments traces métalliques indispensables au développement des végétaux et des animaux peuvent se révéler toxiques à trop fortes doses. D'autres, tel que le cadmium et le plomb sont des toxiques potentiels. Ainsi, un polluant peut être défini comme un élément ou un composé chimique ordinaire dont la nocivité n'apparaît qu'à partir d'une certaine concentration. Aussi, dans les boues, une multitude de polluants organiques peuvent se trouver en concentration en général de l'ordre de  $\mu\text{g}/\text{kg MS}$  (**Amir, 2005**).

#### **1.5.4.4. Micro-organismes pathogènes**

Tels que les virus, les bactéries, les protozoaires, les parasites, et les champignons. Ils sont notamment présents dans les matières fécales rejetées dans les réseaux d'eaux usées et donc inévitablement présents dans les boues brutes (**Metahri, 2012**).

### **1.5.5. Facteurs caractérisant la nature et la structure des boues**

#### **1.5.5.1. Facteurs caractérisant la nature des boues**

**-Concentration en matière sèche (MS) :** Exprimé en g/L ou en pourcentage en poids. Il est déterminé par la pesée après séchage de la boue à l'étuve à 105°C ou par balance infrarouge. Pour des boues liquides, la MS est généralement proche de la teneur en matières en suspension (MES) déterminée par filtration ou centrifugation (**Tsiorifitiavana et Rahajahariman, 2013**).

**-Teneur en matière volatiles (MV) :** Elle est mesurée par la différence entre le poids de boue sèche à 105°C et celui-ci après chauffage jusqu'au poids constant à 550°C. Cette teneur varie de 60 à 85% des matières sèches **(BAHMED ET CHIBANE., 2016)**.

#### **1.5.5.2. Facteurs caractérisant la structure des boues**

**-Viscosité :** Peut être considérée comme une mesure de l'intensité des forces inter-particulaires **(Tsiorifitiavana et Rahajahariman, 2013)**.

**-Caractère granulométrique :** La répartition des différentes fractions granulométriques permet de classer ces boues dans une classe de texture, qui définit certains paramètres de comportement physiques, de rétention en eau utile, de capacité à stocker les éléments fertilisants ainsi que les risques de pertes par lessivage. Certaines équations ou abaques, basées sur la granulométrie, permettent d'estimer des potentiels ou des risques **(Tsiorifitiavana et Rahajahariman, 2013)**.

**-Nature de l'eau contenue dans la boue :** L'eau contenue dans la boue est la somme :

- D'une eau libre facilement éliminable ;
- D'une eau liée comprenant : l'eau capillaire, l'eau d'hydratation colloïdale, l'eau cellulaire et chimiquement liée **(Tsiorifitiavana et Rahajahariman, 2013)**.

#### **1.5.6. Mode de traitement des boues**

##### **1.5.6.1. Epaissement**

L'épaississement est la première étape de réduction de la matière organique, qui s'opère en général avant le mélange des boues issues des différentes étapes de traitement des eaux usées. Il permet d'améliorer les conditions de fonctionnement et les performances des digesteurs. Il réduit, en outre, la taille des ouvrages de conditionnement et des équipements de déshydratation, etc., venant en aval de cette opération. L'épaississement peut être gravitaire, par flottation, séparation presse ou égouttage, et par séparation centrifuge **(Mampuya, 2020)**.

##### **1.5.6.2. Déshydratation**

La déshydratation consiste à réduire la part d'eau contenue dans la boue. Elle peut se faire par centrifugation, filtre à bande, filtration sous pression, et filtration sous vide. La réduction du volume d'eau contenue dans la boue passe aussi par le séchage : technique de déshydratation des boues préalablement conditionnées qui peut se faire par séchage

thermique, séchage solaire, ou par lits de séchage avec une siccité finale de 25 à 65 % (**Mampuya, 2020**).

Le lit de séchage est un procédé qui ne nécessite pas un conditionnement chimique au préalable. C'est une filtration et évaporation naturelles de la boue sur une aire de séchage composée de :

- Une couche supérieure de sable de 5 à 10 cm (calibre 0,5 à 15 mm).
- Une couche intermédiaire de gravier fin de 10 cm (calibre 5 à 15 mm).
- Une couche inférieure de gros graviers de 20 cm (calibre 10 à 40 mm).
- Les matériaux reposant sur un sol imperméabilisé et nivelé.
- Des drains en ciment ou en plastique sont disposés avec une légère pente sur la couche de base.

La boue passe par deux étapes :

- Filtration naturelle à travers le lit : perte jusqu'à 80% de la teneur en eau.
- Evaporation naturelle (Séchage atmosphérique) (**Guerfi, 2012**).

### 1.5.6.3. Séchage

Le séchage ou l'incinération ne sont généralement appliqués qu'à des boues ayant subi une déshydratation préalable car l'élimination mécanique de l'eau est beaucoup moins coûteuse que son évaporation. Le séchage peut être nécessaire soit pour faciliter l'incinération ultérieure de la boue soit pour faciliter sa valorisation agricole sous forme sèche (**Guerfi, 2012**).

## 2. Probiotiques

### 2.1. Généralités

La notion de probiotiques a été développée grâce aux travaux de Metchnikoff le "père des probiotiques" en 1907 et lauréat du prix Nobel qui avait affirmait que l'ingestion du lait fermenté contenant des bacilles (*Lactobacillus*) influence positivement la flore intestinale en réduisant les activités de la toxicité des microbes nocifs (**Metchnikoff, 1907**). Bien que plusieurs scientifiques aient étudié ce concept depuis près d'un siècle, le terme « Probiotique » est introduit la première fois par les chercheurs Lilly et Stilwell en 1965 qui ont proposé de définir les probiotiques comme étant « des produits d'origine microbienne stimulant la croissance d'autres organismes ». Si l'on prête attention à son étymologie, le mot probiotique vient du mot latin Pro « pour » et du mot grec Bios « vie ». Donc un probiotique est un

composé « en faveur de la vie » (**Lilly et Stillwell, 1965**). En 1974, Parker définit les probiotiques comme étant des « organismes et substances qui participent à l'équilibre microbien intestinal ». Selon cette définition, les probiotiques ne sont pas seulement des organismes vivants, mais aussi des composés qui limitent le développement bactérien : antibiotiques (**Parker, 1974**). Quelques années plus tard, cette définition a été modifiée par **Fullet (1991)** selon lequel « Les probiotiques sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additif alimentaire et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale » (**Fullet, 1989**).

Plusieurs auteurs réévaluèrent ensuite cette définition, lui apportant modifications et compléments successifs, jusqu'à celle retenue par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) ainsi que l'Organisation des Etats-Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (F.A.O.) : « Les probiotiques sont des bactéries vivantes qui lorsque consommées régulièrement et en quantité suffisante, exercent un effet potentiellement bénéfique sur la santé, elle fait intervenir la notion nouvelle de dose appropriée qu'il faudra administrer dans le but d'obtenir ces effets » (**F.A.O. et O.M.S., 2001**).

Cette définition a été modifiée par L'Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et les Prébiotiques (I.S.A.P.P.) en 2014 comme suit : "Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte « La définition différencie les microbes vivants utilisés comme auxiliaires technologiques ou sources de composés utiles de ceux qui sont administrés principalement pour leurs bienfaits pour la santé.

La distinction entre micro-organismes commensaux et probiotiques est également déduite de cette définition. Bien que les commensaux dans l'intestin soient souvent la source de souches probiotiques, tant que ces souches ne sont pas isolées, caractérisées et qu'un cas crédible n'a pas été présenté pour leurs effets sur la santé, elles ne peuvent pas être appelées « probiotiques ».

## **2.2. Principales espèces des bactéries à potentiel probiotique**

### **2.2.1 Bactéries lactiques**

Traditionnellement utilisées pour la conservation des denrées alimentaires grâce à la capacité fermentaire, les bactéries lactiques ont aussi pour but d'améliorer les caractères organoleptiques des aliments (Saveur et texture). Les espèces du genre *Lactobacillus* constituent le plus grand groupe de micro-organismes vivants ingérés via l'alimentation.

Un intérêt croissant est aujourd'hui porté à l'usage clinique qu'il peut être tiré de certaines espèces du groupe précisément leurs bienfaits sur la santé (Noémie, 2016).

Les bactéries lactiques (LAB) sont un groupe très diversifié de bactéries fermentatives et acido-tolérantes, présentent sous forme de coques, de bacilles ou de bacilles arrondis (Fig.05). Les Gram-positifs, en générale non sporulant, se caractérisent par l'absence du système de cytochrome (Lachi, 2019 ; Liuet al., 2014). Elles sont dépourvues de catalase et de nitrate réductase. Etant incapables de synthétiser des acides aminés à partir de sources azotés, ceux-ci doivent leur être apportés par le milieu de culture (Noémie, 2016). Il est intéressant de noter que lorsque de l'hème est présent dans le milieu, certaines espèces peuvent respirer par voie aérobie. La respiration a un effet positif sur la croissance cellulaire car la biomasse bactérienne augmente avec la résistance à l'oxygène (Lachi, 2019 ; Luciana et al., 2017).

(A) *Lactococcus bulgaricus* (B) *Lactococcus lactis* (C) *Streptococcus thermophilus*

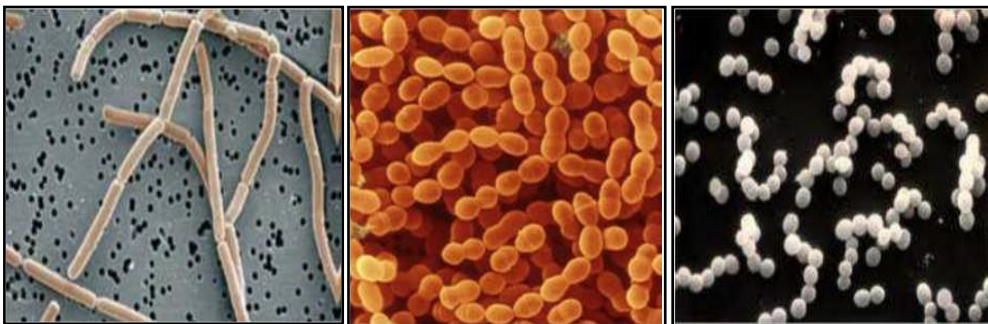


Figure 05 : Bactéries lactiques sous forme de bacilles (A), coques (B), bacilles arrondis (C) (Fessard, 2017).

Les bactéries lactiques inhibent la prolifération de certains micro-organismes par la production de composés inhibiteurs tels que les bactériocines, et en abaissant le pH par la production d'acide lactique (Ait Belganaoui, 2006). Les bactéries lactiques qui disposeraient de propriétés probiotiques sont : *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*. Dans ce cadre, le genre le plus étudié et le mieux connu est *Lactobacillus*.

Les bactéries lactiques sont largement retrouvées dans l'environnement. Elles sont présentes sur les surfaces végétales, notamment sur les fruits qui sont riches en sucres. Leur quantité augmente avec la pourriture du matériel végétal. Elles sont aussi retrouvées dans des aliments fermentés tels que la choucroute, les produits laitiers ou des viandes, ainsi que dans les boissons fermentées comme le vin, la bière, les whiskies ou divers jus. Les ensilages destinés au bétail en contiennent également (De Vos, 2009). Selon le même auteur, ces

bactéries se retrouvent également au niveau des muqueuses respiratoires, digestives et vaginales de l'Homme et des animaux. Elles sont aussi retrouvées dans les eaux usées (De Vos, 2009).

### 2.2.2 Les bifidobactéries

Longtemps considérées comme des bactéries lactiques, les bifidobactéries sont phylogénétiquement très éloignées de ce groupe. Elles sont employées dans l'industrie agro-alimentaire pour la production et la conservation des aliments. Elles font partie du microbiote intestinal humain et ce sont d'ailleurs les premières bactéries à coloniser l'intestin du nouveau-né nourri au sein. Une attention toute particulière est actuellement portée à ces bactéries qui pourraient avoir une importance capitale dans le développement de l'enfant et son bien être (Noémie, 2016).

Les bifidobactéries sont des bâtonnets ramifiés (Fig.6) à Gram positif présentant une organisation spatiale variable. Elles peuvent être isolées ou s'assembler en chaînes ou amas. Immobiles et asporulantes, elles sont anaérobies. Elles ne disposent pas de catalase, exception faite des espèces *Bifidobacterium indicum* et *Bifidobacterium asteroides* lorsqu'elles sont cultivées en présence d'oxygène. L'enzyme nitrate-réductase est également absente (Dellaglio, 2005).

Les bifidobactéries se rapprochent du groupe des bactéries lactiques car elles synthétisent également de l'acide lactique mais elles emploient une voie fermentaire particulière, dite « bifide », grâce à laquelle elles dégradent les glucides en lactate tout en produisant de l'ATP (Noémie, 2016).

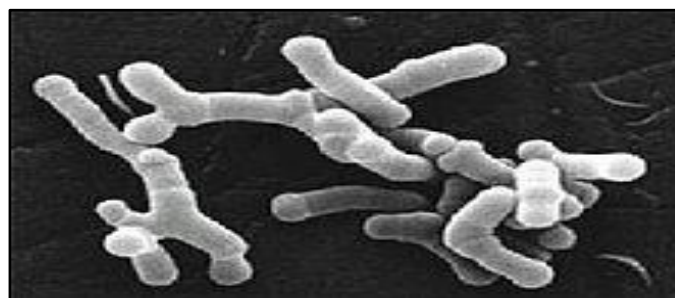


Figure 06: *Bifidobacterium longum* sous microscopie électronique (Ait Belganaoui, 2006).

Les principales espèces des bifidobactéries utilisées comme probiotiques sont : *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*,



***Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* et *Bifidobacterium thermophilus* (Ait Belganaoui, 2006).**

Ces bactéries sont retrouvées dans l'intestin en particulier celui des nourrissons, la cavité buccale et le vagin humain. Elles sont également présentes dans le rumen des bovins et l'intestin de certains insectes tels que l'abeille (Dellaglio, 2005).

### 2.2.3 Bactéries non lactiques

D'autres bactéries font également preuve d'intérêt en tant que probiotiques. Il s'agit notamment de la souche *Escherichia coli* Nissle 1917 et de bactéries sporulées dont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* (Fig.7) dont le métabolisme est différent des précédentes (Catherine, 2013).

Le genre *Bacillus* constitue un groupe très hétérogène de bactéries, tant sur le plan génétique que sur le plan métabolique. Il appartient au Phylum des *Firmicutes* au sein de la Classe des *Bacilli*, dans l'Ordre des *Bacillales* et la Famille des *Bacillaceae*. Les espèces du genre *Bacillus* peuvent sporuler lorsque les conditions du milieu sont défavorables. Sur le plan métabolique, aucune activité n'est détectable dans les endospores et elles ne contiennent pas d'ATP (De Vos, 2009).

Les *Bacilli* seront également affectés par la densité de la population bactérienne dans l'environnement proche. En effet, lorsque ces bactéries se développent, elles excrètent dans le milieu extracellulaire des peptides particuliers impliqués dans le quorum sensing. Les CSF (Competence and Sporulation Factor). En fonction de croissance de la population bactérienne, la concentration de CSF augmente, dans un seuil donné, elle déclenche la dépression de gènes impliqués dans la sporulation, par le biais de divers messagers intracellulaires (De Vos, 2009).

Les endospores bactériennes sont actuellement considérées comme les formes de vie les plus résistantes sur Terre. Ces structures sont utilisées comme probiotiques pour le genre *Bacillus*. Grâce à leur thermostabilité et leur importante résistance au pH gastrique leur permettraient d'être ingérées et d'atteindre la lumière intestinale sans altération (De Vos, 2009).



Figure 07: *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus* microscope (Allemagne, 2023).

Ce sont des espèces ubiquitaires majoritairement saprophytes retrouvées dans les sols, l'eau douce ou l'eau de mer, les végétaux et dans des denrées alimentaires (De Vos, 2009). Les spores peuvent être répandues dans tout l'environnement via les poussières, les aérosols ou l'eau, les germes sont donc facilement transportés de leur environnement naturel initial vers toutes les surfaces et corps voisins, inertes ou vivants. Elles résistent aux étapes de stérilisation et il est possible de les retrouver dans des produits alimentaires ou médicamenteux stérilisés (De Vos, 2009).

Au sein du genre, il existe des pathogènes opportunistes ou obligatoires, comme *Bacillus anthracis* responsable de la maladie du charbon ou anthrax. Il est considéré comme arme potentielle du bioterrorisme depuis la Seconde Guerre Mondiale. *Bacillus cereus* est quant à lui responsable de toxi-infections alimentaires collectives (BUDKA H, 2015). Parmi les bactéries non lactiques, les levures sont les premiers micro-organismes utilisées par l'Homme depuis des millénaires, dans la fabrication des boissons alcoolisées et du pain par fermentation. Les levures sont des cellules eucaryotes à structure plus complexe que celle des bactéries notamment par la présence d'un noyau, de mitochondrie, d'un appareil de Golgi et de plus d'un chromosome (*Saccharomyces cerevisiae* à 16 chromosomes). Depuis de nombreuses années, elles sont également utilisées comme additifs alimentaires chez les animaux et comme régulateur du microbiote intestinal chez l'Homme. Les levures utilisées

Comme probiotiques sont des souches de *Saccharomyces cerevisiae* et en particulier la souche *Saccharomyces boulardii* (Catherine, 2013).

Les biotechnologies et la recherche biomédicale exploitent ainsi ces micro-organismes pour la production de molécules à intérêt médical (Production de protéines hétérologues comme le vaccin de l'hépatite B) (Mercierm, 1997 ; Blin, 2002).

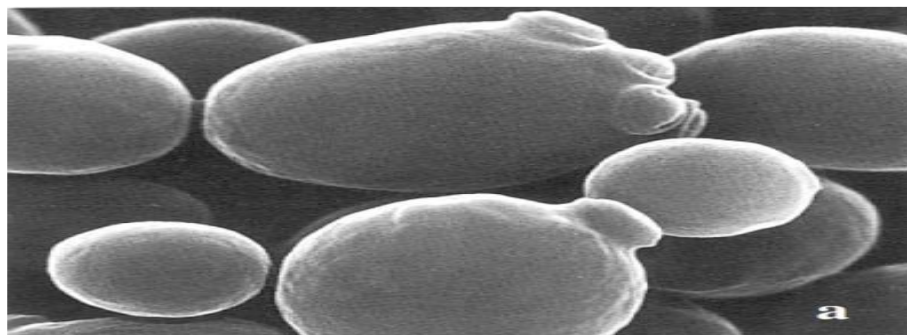


Figure 8 : *S. cerevisiae* sous microscopie électronique (Tortora et al, 2003).



Le rythme d'apparition de nouveaux produits probiotiques est en augmentation constante (Tab.6). Depuis plusieurs années, une progression corrélée notée au nombre de publications scientifiques consacrées aux probiotiques. Les souches probiotiques sont cultivées industriellement etensemencées dans des aliments ou lyophilisées pour être administrées directement sous une forme galénique, témoignant le développement continu dans l'utilisation clinique des probiotiques (**Catherine, 2013**).

**Tableau 06 : Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques (Catherine, 2013).**

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autres bactéries lactiques	Bactéries non lactiques et levure
<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. crispatus</i> <i>L.gallinarum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L.delbrueckii</i> <i>L.fermentum</i> <i>L.brevis</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B.lactis</i> <i>B. longum</i>	<i>Enterococcusfaecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>Lactococcuslactis</i> <i>Leuconostocmesenteroides</i> <i>PediococcusAcidilactici</i> <i>Sporolactobacillusinulinus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>S. salivariu s</i>	<i>Bacilluscereus var. toyoi</i> <i>B. coagulans</i> <i>B. clausii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Strainnissle</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>S. boulardii</i>

### 2.3. Propriétés et critères de sélection des souches probiotiques

La F.A.O.a le pouvoir de réglementation sur les produits probiotiques et jalonne les responsabilités des fabricants y compris l'étiquetage et la sécurité de ces produits commercialisés sous forme d'aliments, de suppléments et/ou de médicaments (**Mary Ellen, 2008**). Pour être sélectionnées en tant que probiotiques chez l'Homme, les souches microbiennes doivent posséder certaines propriétés fonctionnelles, sécuritaires et technologiques (**F.A.O/O.M.S., 2002**). Selon les mêmes organismes, le choix des probiotiques dépend de leur d'utilisation ainsi que leurs propriétés.

Ces dernières sont propres à chaque souche et ne peuvent pas être extrapolées d'une souche à l'autre même au sein d'une seule espèce. Les différents critères de sélection sont résumés dans **le tableau 8**.

**Tableau 08: Principaux critères de sélection des souches probiotiques (F.A.O./O.M.S.,2002 ; Benkaddour, 2013 ; Catherine,2013 ; Bahri, 2014 ).**

Critères fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus gastro-intestinal.</li> <li>- Production de substances antimicrobiennes et antagonisme vis-à-vis des pathogènes.</li> <li>- Tolérance à l'acidité gastrique, à la bile et aux enzymes digestives.</li> <li>- Immunmodulation.</li> <li>-Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé (Efficacité documentée et prouvée dans des études <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> contrôlées chez l'Homme).</li> </ul>
Critères de sécurité	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Identification taxonomique précise.</li> <li>-Souche caractérisée par des techniques phénotypiques et génotypiques.- Souche pour l'usage humain (isolée du tractus intestinal d'un Homme sain) ou alimentaire (utilisée dans les produits fermentés).</li> <li>-Souche déposée dans une collection de cultures reconnue internationalement.</li> <li>-Historique de non pathogénicité.</li> <li>-Pas de transmission possible de gènes de résistance aux antibiotiques.-Pas de déconjugaison excessive des sels biliaires</li> </ul>
Critères technologiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini.</li> <li>-Conservation des propriétés probiotiques après production.-Bonnes propriétés organoleptiques</li> </ul>

## 2.4. Probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé

Les probiotiques ont acquis une importance médicale croissante en raison de leurs effets bénéfiques sur le corps humain associé à la prévention et à l'accompagnement du traitement de nombreux maladies en l'absence d'effets secondaires (Ślizewska et al, 2021).

### 2.4.1 Protection contre les pathogènes entériques (Infections à *Helicobacter pylori*)

Le rapport de consensus Maastricht V/Florence de 2016 sur la gestion de l'infection à *Helicobacter pylori* a conclu que les probiotiques et les prébiotiques sont prometteurs pour réduire les effets secondaires du traitement contre *H. pylori*. Cependant, la qualité des preuves et le degré de recommandation étaient faibles (O.M.G, 2017).

Une méta-analyse d'essais randomisés de 2014 suggère que les régimes antibiotiques avec certains probiotiques peuvent également être efficaces pour augmenter les taux

d'éradication et peuvent être considérés comme utiles pour les patients en échec d'éradication. Il n'y a aucune preuve à l'appui du concept selon lequel un probiotique seul, sans antibiothérapie concomitante, serait efficace (O.M.G, 2017).

#### 2.4.2. Prévention de la diarrhée à *Clostridium difficile*

Une méta-analyse de 2016 a conclu que les probiotiques peuvent réduire le risque de développer une diarrhée associée à *C. difficile* chez les patients recevant des antibiotiques. Cependant, les auteurs avertissent que des études supplémentaires sont nécessaires afin de déterminer le meilleur dosage et la meilleure souche (O.M.G., 2017).

#### 2.4.3. Prévention de la diarrhée associée aux antibiotiques

Deux méta-analyses ont montré que les probiotiques, en particulier *Saccharomyces boulardii* et *Lactobacillus rhamnosus*, peuvent être utilisés dans la prévention des diarrhées associées aux antibiotiques (Ebel, 2012).



Tableau 9 : *Lactobacillus rhamnosus* : balayage coloré micrographie électronique. (Claes, 2012).

#### 2.4.4. Réponse immunitaire

Selon l'O.M.G. (2017), il existe des preuves suggérant que l'Oglio fructose prébiotique ainsi que plusieurs souches probiotiques seraient utiles pour améliorer les réponses immunitaires visant à prévenir les maladies infectieuses aiguës (Diarrhée nosocomiale chez l'enfant, épisodes grippaux en hiver).

#### 2.4.5. Prévention et traitement de l'encéphalopathie hépatique

Les prébiotiques tels que la lactulose sont couramment utilisés pour la prévention et le traitement de l'encéphalopathie hépatique. Les preuves d'un mélange de probiotiques suggèrent qu'il peut inverser l'encéphalopathie hépatique minimale (O.M.G., 2017).

#### **2.4.6. Prévention du cancer**

De nombreux résultats prometteurs ont pu mettre en exergue l'effet antitumoral des probiotiques ainsi que leur rôle important dans le soutien des thérapies anticancéreuses ainsi que la prévention de certains cancers tel que le cancer colorectal (Fig.9). Cependant, la présentation des résultats de la recherche confirment l'efficacité des probiotiques uniquement pour la prévention potentielle de cancer ou comme traitement adjuvant lors d'une chimiothérapie anticancéreuse. Les essais cliniques ne sont toujours pas suffisants pour confirmer sans ambiguïté le potentiel des micro-organismes probiotiques à cet égard (**Slizewska et al, 2021**).

#### **2.4.7. Intolérance au lactose**

Bien que différentes souches de probiotiques ont été utilisées de manière efficace dans l'alactasie, une revue de littérature a montré que les probiotiques ne réduisaient pas de manière significative les signes et les symptômes de l'intolérance au lactose (**Ebel et al, 2012**).

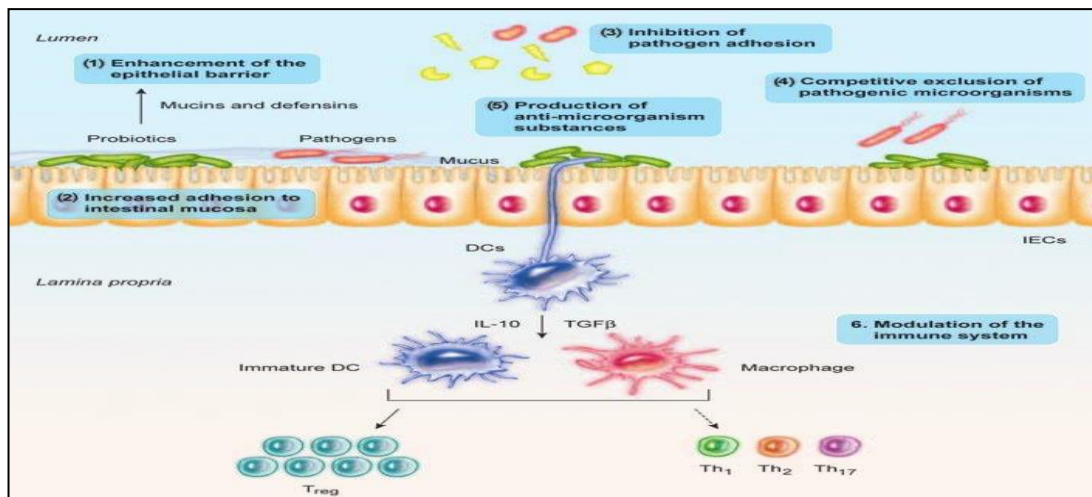
#### **2.4.8. Maladie d'Alzheimer et probiotiques**

Une étude effectuée en 2016 sur l'Homme, a mis en évidence les effets bénéfiques d'un mélange de probiotiques sur les performances cognitives des patients atteints de MA avec des altérations de l'état métabolique. En revanche, aucune modification de la performance amnésique, du statut antioxydant et des niveaux de marqueurs inflammatoires n'a été rapporté. De nouvelles preuves ont été avancées lors d'un essai randomisé via IRM fonctionnel dans lequel l'effet bénéfique des probiotiques sur la neurocognition a été soutenu. En effet, dans cette étude le groupe d'individu traité avec des probiotiques a montré une augmentation significative des performances de la mémoire de travail liée au stress (**Katleen, 2021**).

Les études réalisées sur l'administration de probiotiques ne sont pour le moment que préliminaires et ne constituent en aucun cas un moyen de traitement de la MA mais plutôt un moyen de prévention à l'instar de l'alimentation (**Katleen, 2021**).

### **2.5. Mécanismes d'action des probiotiques**

Les mécanismes d'action des probiotiques sont complexes, souvent multiples et dépendent de la souche bactérienne considérée (**Fig.10**).



**Figure10:** Mécanismes d'action des probiotiques (Chetti et al., 2021).

## 2. 6. Influence des probiotiques sur la qualité des eaux usées et les boues activées

Afin de préserver l'environnement, les autorités épidémiologiques sanitaires fixent des exigences assez strictes en matière de qualité du traitement des eaux usées. Dans la situation actuelle, il s'avère pertinent d'envisager de nouvelles technologies qui garantissent l'efficacité du traitement telle que l'utilisation de probiotiques aux micro-organismes et enzymes à grande teneur conçus pour la destruction rapide de substances organiques dans les eaux usées, permettant ainsi l'accélération du processus de décomposition tout en réduisant les processus anaérobies conventionnels accompagnés d'odeurs désagréables et de gaz toxiques (Ammoniac, Sulfure d'hydrogène et Méthane) (Sidorenko et al., 2018).

# **CHAPITRE II :**

## **Matériel & Méthodes**

## CHAPITRE II : MATERIEL & METHODES

### 3.1. Présentation de la station d'épuration d'Oued el Athmania

#### 3.1.1. Localisation

La station d'épuration des eaux usées de la ville de Chelghoum Laid est située à la sortie de la commune d'Oued Athmania Daïra de Chelghoum Laid. Elle s'étend sur une superficie de 6 hectares avec une capacité nominale de 262 000 m<sup>3</sup>/j basée sur un approvisionnement en eau brute de 276000 m<sup>3</sup>/j. Elle a été mise en service en 1995 et traite les eaux usées d'Oued Athmania et Chelghoum Laid (Saada et sefiani .,2021 ).

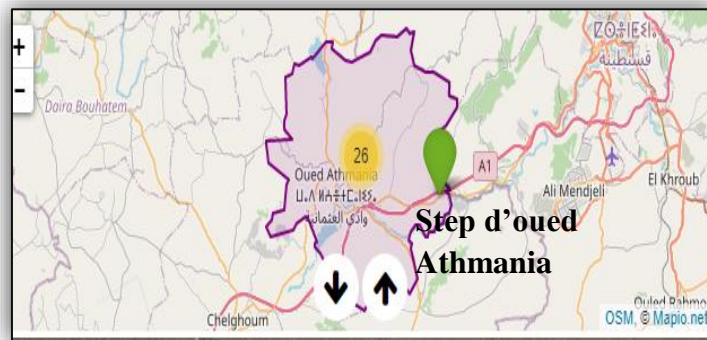


Figure 11: Localisation de STEP d'Oued Athmania (Google Maps).

#### 3.1.2. Procédés de traitements

##### 3.1.2.1. Prétraitement

Consiste en **dégrillage mécanique** pendant lequel on utilise un crible à chaîne mécanique constitué d'un barreau de 10 mm de largeur, dont l'espacement entre les barreaux est de 20 mm (Photo 03) (Saada et sefiani .,2021 ).



Photo03: Dégrilleur.



Ensuite **un déssableur déshuileur est utilisé**. Il s'agit d'un dégraisseur déssableur longitudinal aéré, constitué de deux ponts baladeurs munis de deux souffleurs d'air pour extraire le sable et d'un racleur pour racler les huiles vers une fosse fermée (**Photo.04**) (Saada et sefiani , 2021 ).



*Photo04: Déssableur, déshuileur.*

### 3.1.2.2. Traitement biologique

Il s'effectue dans deux bassins d'aération dont un seul qui est en fonctionnement avec une capacité totale de 4548 m<sup>3</sup> chacun. Le bassin est équipé d'une électrode d'oxygène reliée à une oxymétrie, trois aérateurs de 45 kW avec une capacité d'aération 60Kg O<sub>2</sub>/h chacun (**Photo. 05**) (Saada et sefiani, 2021 ).



*Photo 05 : Bassin d'aération.*

### 3.1.2.3. Clarification

Elle s'effectue dans deux décanteurs cylindro-conique raclé à entraînement périphérique (**Photo.06**) (Saada et sefiani, 2021 ).





*Photo06: Clarification.*

### 3.2. Collecte et traitement de l'échantillon

Les échantillons utilisés dans le présent travail ont été prélevés à partir de la Station d'épuration d'Oued el Athmania. Les échantillons des boues actives dans ce travail ont été prélevés à partir des deux endroits de la station, en l'occurrence, le bassin d'aération (Traitement biologique) et le décanteur primaire (Traitement biologique) (**Photo.07**).

Une quantité de ce dernier est prélevée et introduite dans des flacons stériles afin de les transporter jusqu'au laboratoire.



**Bassin D'aération**

**Décanteur primaire**

*Photo 07 : Sites de prélèvement.*

### 3.3 Isolement des bactéries du genre *Bacillus*

#### 3.3.1 Dilutions

Selon **Jerome (2004)**, la préparation des dilutions consiste tout d'abord à préparer quatre série des dilutions décimales par l'ajout successif de 1 ml de la solution mère à 9 ml d'eau physiologique stérile (9g d'Na Cl dans 1 litre d'eau distillée), jusqu'à l'obtention de la dilution de  $10^{-5}$  dans deux séries et les autre jusqu'à l'obtention de la dilution de  $10^{-3}$ .

### 3.3.2. Traitement thermique

Les endospores sont détectées indirectement en chauffant les tubes contenant les dilutions préparées (les deux séries de la dilution de 10<sup>-3</sup>) précédemment à 80°C pendant 10 minutes puis les tremper dans de l'eau du robinet, traitement auquel les endospores résistent habituellement, mais qui tue la plupart des cellules végétatives (Singleton, 2005).

### 3.3.3 Ensemencement

Lors de cette étape, 0.1 ml de chacune des dilutions est déposée sur des boîtes de Pétri contenant le milieu nutritif gélosé LB (Luria-Bertani), puis étalé uniformément avec un étaloir stérile par un mouvement de balayage et de rotation sur l'ensemble de la surface de la gélose. Grâce à cette méthode, toutes les colonies se développent sur la surface. L'incubation est réalisée à 30°C pendant 24 heures (Tortora et al, 2003).

### 3.3.4 Purification

Après développement des colonies, les bactéries isolées sont repiquées dans le même milieu de culture (LB). La purification est effectuée par la méthode des stries qui consiste à tracer des stries croisées avec l'anse contenant la bactérie, sur la surface d'une gélose neuve dans des boîtes de Pétri.

La colonie parfaitement isolée, est ensuite prélevée et transférée toujours au moyen d'une anse de repiquage sur le même milieu mais dans de nouvelles boîtes de Pétri. L'incubation de toutes les boîtes est effectuée à 30°C jusqu'à l'obtention de colonies apparentes (John et Michael, 2007).

## 3.4. Identification des isolats bactériens à potentiel probiotique

Outre l'observation macroscopique basée sur la détermination de l'aspect et la couleur des colonies des *Bacillus*, l'identification est confirmée par l'observation microscopique qui met en évidence la taille, la forme, l'arrangement des cellules et la mobilité ainsi que l'étude des caractères biochimiques.

### 3.4.1 Observation macroscopique

L'étude de l'aspect macroscopique consiste en une observation à l'œil nu de la taille (Petite, moyenne, grande), la forme de la colonie (Ronde, irrégulière...), la transparence, l'élévation de la colonie, le type de colonie et le relief (Guiraud, 1998).

### 3.4.2. Observation microscopique

#### 3.4.2.1. Observation à l'état frais

Cette technique permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie. Il est souvent possible de visualiser si les cellules sont mobiles ou non. La technique consiste à déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame en verre propre. Puis à l'aide d'une anse de platine stérile, un prélèvement bactérien de la colonie à identifier est apporté et dissocié dans la goutte d'eau physiologique. Ensuite la lame est recouverte par une lamelle, tout en évitant la formation de bulles d'air. Enfin, l'observation est réalisée au microscope optique à l'objectif (X40) puis à immersion (X100) (**Singleton, 2005**).

#### 3.4.2.2. Coloration de Gram

La coloration de Gram est l'une des méthodes de coloration la plus utile, elle permet de diviser les bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (**Tortora et al, 2003**). Selon **Singleton(2005)** la méthode classique consiste en : Les frottis utilisés sont étalés à l'aide d'une anse sur des lames en verre propre. Ces dernières sont ensuite séchées à l'air à proximité d'un bec Bunsen, puis fixées par la chaleur en les passant deux ou trois fois sur la flamme. Les frottis préparés sont colorés pendant 1 minute au cristal violet, qui est un colorant basique, ils sont ensuite, inondés rapidement par une solution de lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de Potassium) qui agit comme un mordant, c'est-à-dire, il augmente les interactions entre le colorant et la cellule pour que cette dernière soit contrastée. Sans rincer en inclinant les lames, les frottis sont ensuite décolorés par lavage avec un mélange d'éthanol (1 à 3 secondes). Juste après, la décoloration est arrêtée rapidement par lavage à l'eau du robinet. Dans la dernière étape, les frottis sont soumis à une contre coloration de 30 secondes à la fuchsine basique diluée. Après un bref rinçage, les frottis sont séchés par le papier buvard et examinés par microscope jusqu'à l'objectif à immersion (grossissement X100) (**Camille, 2007**). La couleur violette due au cristal violet est l'aspect caractéristique des bactéries à coloration Gram positive, les bactéries Gram négative se colorent en rose par la fuchsine (**Tortora et al, 2003**).

#### 3.4.2.3 Coloration des endospores

Une endospore est une structure dormante intracellulaire particulière qui protège la bactérie contre des conditions environnementales défavorables. Bien que, en général, les bactéries ne produisent pas d'endospores, il existe néanmoins, quelques genres de bactéries à

Gram positif qui sporulent. Les endospores ne peuvent être colorées par les méthodes habituelles car les colorants pénètrent difficilement à travers la paroi. Par exemple, traitées à la coloration de Gram, les bactéries sporulées se colorent mais l'endospore demeure transparente. Dans le contexte d'un diagnostic microbiologique où il importe de vérifier leur présence pour identifier l'agent pathogène, il faut colorer spécifiquement les endospores. La technique de coloration la plus courante pour les endospores est la coloration de Schaefferfulton. D'abord, le frottis fixé à la chaleur est recouvert par le vert de Malachite, colorant primaire, puis chauffé jusqu'à évaporation pendant environ 5 minutes, la chaleur favorise la pénétration du colorant à travers la paroi de l'endospore. La préparation est ensuite lavée à l'eau pendant environ 30 secondes. Pour colorer les constituants bactériens qui ne sont pas des endospores, le frotti est traité par la safranine qui est un contre colorant. Si le frottis est correctement préparé, les endospores apparaîtront en vert à l'intérieur des cellules bactériennes colorées en rouge ou rose (**Tortora et al, 2003**).

### **3.4.3 Caractères biochimiques**

#### **3.4.3.1 Test catalase**

La catalase est une enzyme contenant du fer, qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène. Synthétisée par la plupart des bactéries aérobies, elle élimine le peroxyde d'hydrogène produit au cours du métabolisme aérobie. Le test de la catalase sert à détecter la présence de cette enzyme dans une souche bactérienne donnée. Il consiste essentiellement à exposer les cellules bactériennes au peroxyde d'hydrogène, la présence de catalase se manifeste par la formation de bulles (oxygène). Dans la version traditionnelle du test. Un prélèvement bactérien est transféré au moyen d'une boucle dans une goutte de peroxyde d'hydrogène déposée sur une lame. Avec cette technique, si le test est positif, les bulles en éclatant donnent naissance à un aérosol (**Singleton, 2005**).

Pour éviter la contamination de l'environnement par des aérosols, une autre méthode est utilisée : en plaçant une petite quantité de culture bactérienne dans une lame, vide et propre, ensuite, deux gouttes de peroxyde d'hydrogène sont déposées à proximité de l'échantillon bactérien. Une réaction positive se traduit par l'apparition de bulles (**Singleton, 2005**).

#### **3.4.3.2 Type respiratoire**

Pour le type respiratoire, le milieu utilisé est la gélose Viande-foie (VF). Ce milieu contient du glucose (source du métabolisme énergétique) et ne contient pas de nitrates (accepteurs d'électrons). Avant d'êtreensemencés, les milieux VF doivent être régénérés par

séjour d'une demi-heure au bain-marie bouillant puis refroidis à 45°C. L'effilure d'une pipette Pasteur boutonnée stérilisée par flambage est plongée dans une suspension de la bactérie à étudier. L'inoculum est transporté dans le fond du tube, ensuite la pipette est remontée en décrivant des tours de spires très serrés en prenant soin de ne pas aérer le milieu. L'incubation est effectuée à 37 °C durant 18 à 24 heures. Après incubation, quatre types respiratoires peuvent être observés:

- Bactérie aérobie strict: croissance uniquement dans la zone superficielle de la gélose ;
- Bactérie anaérobie strict : croissance uniquement dans la zone profonde de la gélose;
- Bactérie aéro-anaérobie facultatif : croissance sur toute la hauteur de la gélose;
- Bactérie micro-aérophile : croissance dans un cylindre de gélose d'environ 0,5 cm de hauteur et situé à environ 1 à 2 cm de la surface (**Camille, 2007**).

### 3.4.3.3. Fermentation de quelques substrats carbonés en utilisant la galerie API 20<sup>E</sup>

Les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification des bactéries et la détermination de certaines espèces par la compréhension de certaines caractéristiques du métabolisme des isolats (**Goszczyńska et al, 2000**). A cet effet, la galerie API 20 E, a été utilisée pour tester la fermentation des 20 substrats carbonés semi-solides. Les bactéries à tester sont mises en suspension dans de l'eau physiologique puis inoculées dans chaque puits de la galerie. Pendant l'incubation, le métabolisme des glucides par exemple produit des acides organiques qui font virer les indicateurs du pH. La lecture de galerie a été faite après 24 h d'incubation à 30°C, en notant les virages du négatif au positif de chaque puits.

**Tableau 08** : Substrats spécifiques de la galerie API 20<sup>E</sup>.

Substrats	Significations	Caractère
<b>ONPG</b>	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	B-galactosidase
<b>ADH/LDC/ODC</b>	Arginine,lysine,ornithine	Argenine-déhydrogenase Lysine-décarboxylase Ornithine-décarboxylase
<b>CIT</b>	Citrate de simons	Utilisation des citrates
<b>H2S</b>	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S
<b>TDA</b>	Tryptophane	Tryptophane-désaminase
<b>VP</b>	Pyruvate de sodium	Production d'acétonine
<b>GEL</b>	Gélatine	Gélatinase
<b>Sucre</b>	Substrats carbonés	Utilisation des glucides

### 3.5. Evaluation de l'effet probiotique des isolats bactériens

Afin d'évaluer l'activité probiotique des isolats, des paramètres ont été testés à savoir : Lécithines, résistance à l'acidité gastrique, propriétés de surface et adhérence cellulaire.

#### 3.5.1. Lécithines

La gélose au jaune d'œuf modifiée est basée sur la formule originale de la gélose au jaune d'œuf développée par McClung et Toabe pour l'isolement et la différenciation des organismes en fonction de la production de lécithinase et de lipase et de l'activité protéolytique :

-Les micro-organismes qui possèdent l'enzyme lécithinase décomposent la lécithine en diglycéride insoluble et en phosphorylcholine, ce qui se traduit par une zone blanche opaque de précipitation qui s'étend au-delà du bord de la colonie.

-La protéolyse est notée par le développement de zones claires dans le milieu entourant la croissance de la colonie.

La préparation et l'utilisation de la gélose commence par la refroidir à 50-55°C et avant d'ajouter 10 ml d'émulsion de jaune d'œuf stérile pour 90 ml de milieu. Bien mélanger et verser dans des boîtes de Petri stériles. Avant l'inoculation, laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante. Si le milieu n'est pas déjà pré-réduit, il doit être réduit en le plaçant dans des conditions anaérobies pendant 18 à 24 heures. Ensemencer la gélose au jaune d'œuf modifiée avec une culture pure de 24 à 72 heures. Strier le milieu de manière à obtenir des colonies isolées. Immédiatement après l'ensemencement, placer le milieu, en position inversée (côté gélose vers le haut), observer les plaques pour l'apparition de la production de lécithinase et de lipase et de l'activité protéolytique après 48 heures d'incubation. Les cultures ne doivent pas être rejetées comme négatives avant 7 jours d'incubation (**Rehamnia, 2003**).

#### 3.5.2. Résistance à l'acidité gastrique

Chaque isolat bactérien a été ensemencé séparément dans des boîtes de pétri contenant le milieu gélosé (GN) et dans des tubes contenant 10 ml de bouillon nitritif (BN). Le pH est ajusté à 3.5. Le témoin est préparé de la même manière en ajustant le pH à 7.2. L'incubation est faite à 30°C pendant 48h (**Gibson et al, 2005**).

### 3.5.3. Propriétés de surface et adhérence cellulaire

#### 3.5.3.1 Détermination de l'Auto-agrégation chez les isolats sélectionnés

L'auto-agrégation bactérienne a été mesurée selon la technique décrite, avec légères modifications. Les cellules bactériennes ont été collectées par centrifugation (6000 tpm pendant 10min) à partir des cultures d'une nuit, lavées deux fois et re-suspendues dans du PBS et ajusté à une concentration de  $0.5 \pm 0.02$  à une longueur d'onde (OD) ( $A=600\text{nm}$ ) ( $A_{0h}$ ). Deux millilitres de chaque suspension ont été vortexés pendant 10 secondes et incubés à  $37^\circ\text{C}$  pendant 3h. Après incubation, le surnageant a été récupéré et une mesure d'absorbance a été effectuée à 600nm ( $A_{3h}$ ) (**Rehamnia, 2003**).

Le pourcentage d'auto-agrégation a été exprimé selon l'équation (1)

$$\text{Auto-agrégation (\%)} = 1 - (A_{3h} / A_{0h}) \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

#### 3.5.3.2. Détermination de la Co-agrégation chez les isolats sélectionnés

La mesure de la co-agrégation a été effectuée selon la méthode décrite, des volumes de culture identiques de chaque isolat sélectionné et de souches pathogènes (*E. coli* et *S. aureus*) ont été mélangés et incubés à  $37^\circ\text{C}$  pendant 2h. Le surnageant a été récupéré et l'absorbance a été mesuré à 600nm (**Rehamnia, 2003**).

Le pourcentage de co-agrégation a été exprimé selon l'équation (2)

$$\text{Co-agrégation (\%)} = [1 - A_{\text{mix}} / (A_{\text{probiotic}} + A_{\text{pathogen}}) / 2] * 100 \dots\dots\dots (2)$$

## ***CHAPITRE IV : RESULTATS***



## CHAPITRE IV : RESULTATS

Ce travail porte sur la mise en évidence des espèces du genre *Bacillus* développant une activité probiotique, isolé à partir des boues activées prélevées de la station d'épuration des eaux usées.

### 4.1 Isolement et identification des bactéries du genre *Bacillus*

47 isolats bactériens ont été obtenus à partir des deux sites d'échantillonnage. L'analyse des résultats obtenus a montré que 34 isolats bactériens ont été obtenus à partir du site 1 (Bassin d'aération) et 13 bactéries ont été isolées à partir du site 2 (Décanteur primaire).

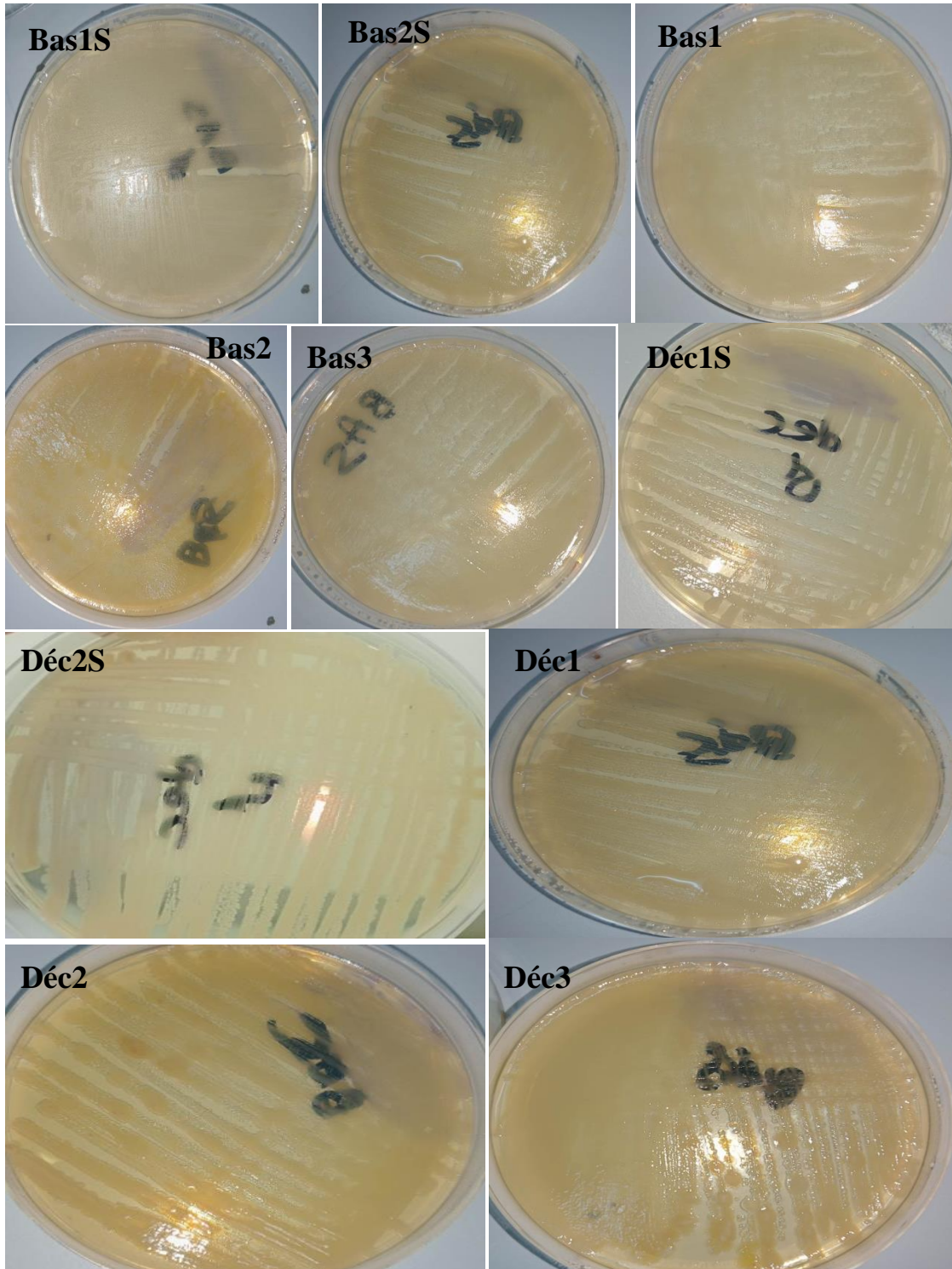
*Tableau 09: Isolats bactériens obtenus à partir de différents sites.*

Sites	La nature d'échantillon	Dilutions	Nombre d'isolats
<b>Bassin D'aération</b>	Non chauffé	10-1	10
		10-2	6
		10-3	3
	Chauffé	10-1	9
		10-2	6
<b>décanteur primaire</b>	Non chauffé	10-1	4
		10-2	3
	Chauffé	10-1	5

Après la purification, seulement 10 isolats ont fait l'objet de complément d'étude, (**Bas1S, Bas2S, Bas1, Bas2, Bas3, Déc1S, Déc2S, Déc1, Déc2, Déc3**). Quant à leur identification préliminaire et leur capacité développant une activité probiotique, elles ont été mises en évidence dans les sections qui suivent.

#### 4.2. Etude macroscopique

L'aspect macroscopique des isolats sélectionnés est présenté dans la (photo.08) sur laquelle on observe des isolats bactériens purifiés.



*PHOTO 08 : Aspect macroscopique des 10 isolats bactériens.*

L'examen macroscopique des isolats a révélé une différence de taille, de forme et de couleur des colonies, ces observations sont récapitulées dans le tableau 10.

*Tableau 10 : Caractères macroscopiques des isolats obtenus.*

Code de l'isolat	Temps d'incubation (Heures)	Taille	Forme	Relief	Couleur
<b>Bas1S</b>	24	Moyenne	Ronde	Plane	Crème
<b>Bas2S</b>		Grande	Ronde	Plane	Crème
<b>Bas1</b>		Petite	Ronde	Plane	Crème
<b>Bas2</b>		Moyenne	Ronde	Plane	Crème
<b>Bas3</b>		Moyenne	Ronde	Plane	Crème
<b>Déc1S</b>		Moyenne	Ronde	Plane	Crème
<b>Déc2S</b>		Moyenne	Ronde	Plane	Crème
<b>Déc1</b>		Moyenne	Ronde	Plane	Crème
<b>Déc2</b>		Grande	Irrégulière	Plane	Crème
<b>Déc3</b>		Grande	Irrégulière	Plane	Crème

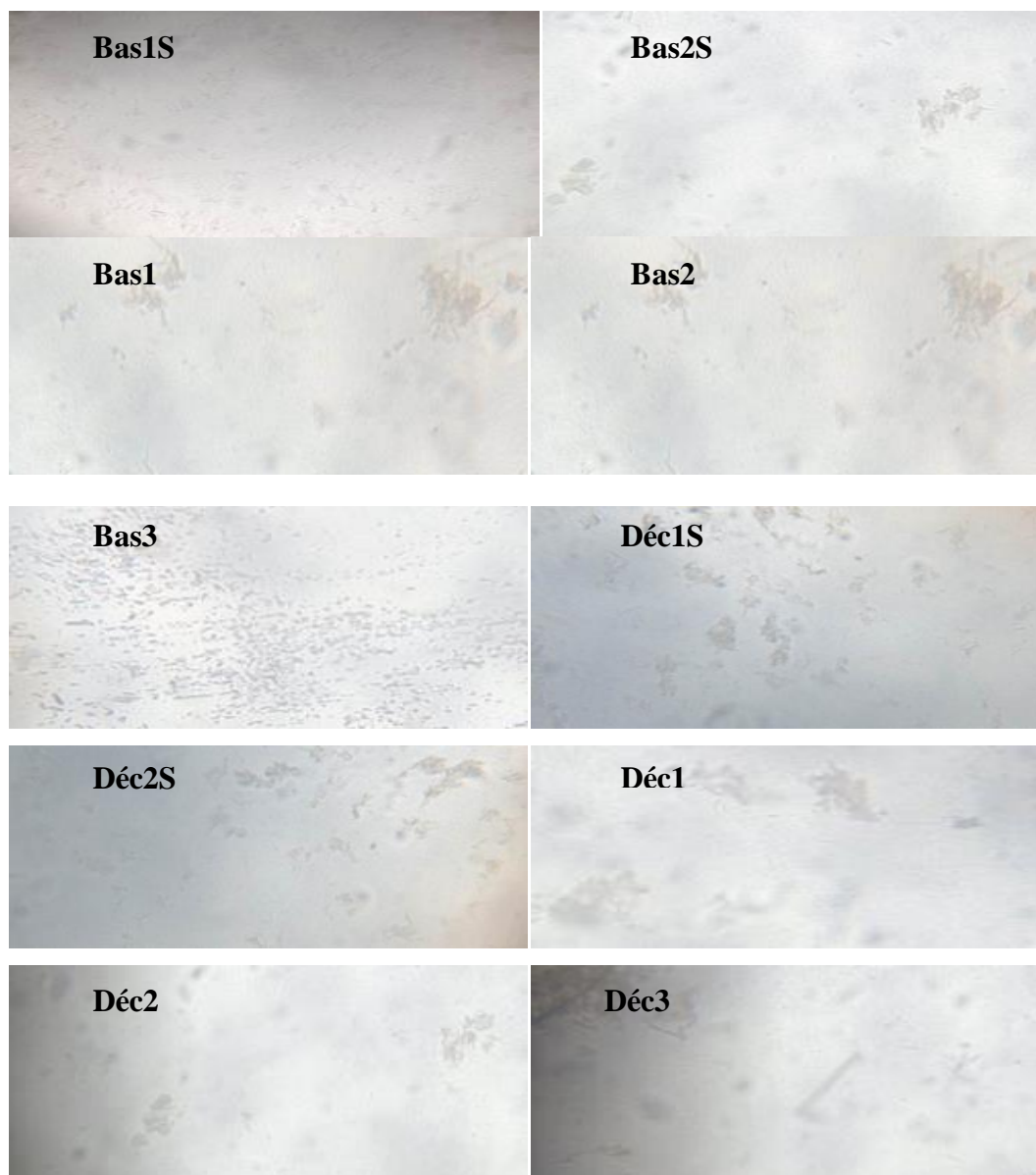
L'observation macroscopique montre que le volume des colonies est variable ayant tendance à s'étaler sous différentes façons.

### 4.3. Etude microscopique

#### 4.3.1. Observation à l'état frais

L'observation à l'état frais nous a permis d'observer la morphologie des bactéries et de voir si elles sont de type mobile ou immobile (**Camille, 2007**).

Les résultats obtenus ont montré que tous les isolats sont mobiles. L'aspect microscopique à l'état frais des isolats obtenus sont illustrés dans **la photo 09**.



**Photo 09** : Observation microscopique à l'état frais des isolats bactériens  
(Grossissement X 100).

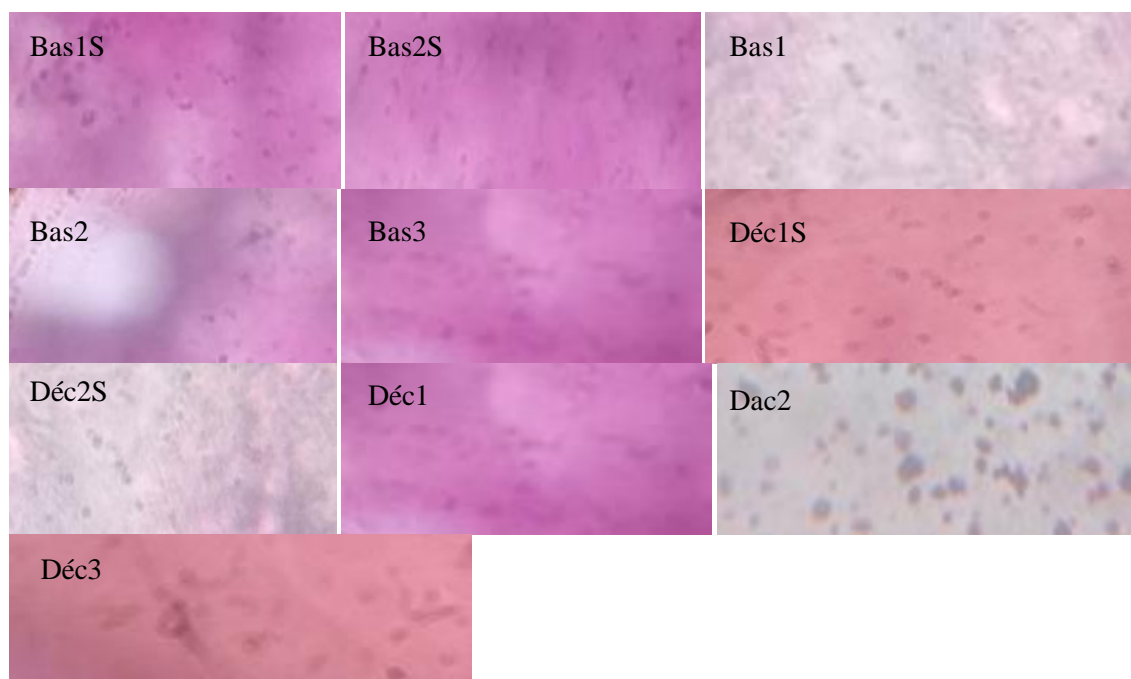
Les bactéries du genre *Bacillus* sont généralement mobiles, mais il y a des espèces immobiles. La mobilité est variable selon les souches pour les espèces mobiles. Le tableau 6 ci-dessous récapitule l'aspect microscopique des isolats obtenus.

**Tableau 11 : Aspect microscopique des isolats bactériens.**

Code de l'isolat	Forme	Mobilité
<b>Bas1S</b>	Bacilles	Mobiles
<b>Bas2S</b>	Bacilles	Mobiles
<b>Bas1</b>	Bacilles	Mobiles
<b>Bas2</b>	Bacilles	Immobilés
<b>Bas 3</b>	Bacilles	Mobiles
<b>Déc1S</b>	Bacilles	Mobiles
<b>Déc2S</b>	Bacilles	Mobiles
<b>Déc1</b>	Bacilles	Mobiles
<b>Déc2</b>	Bacilles	Mobiles
<b>Déc3</b>	Bacilles	Mobiles

#### 4.3.2. Aspect microscopique par coloration de Gram

Après avoir effectué une coloration de Gram, les 10 isolats bactériens obtenus ont présenté une coloration violette, signifiant qu'ils sont Gram (+) (**Photo.10**)

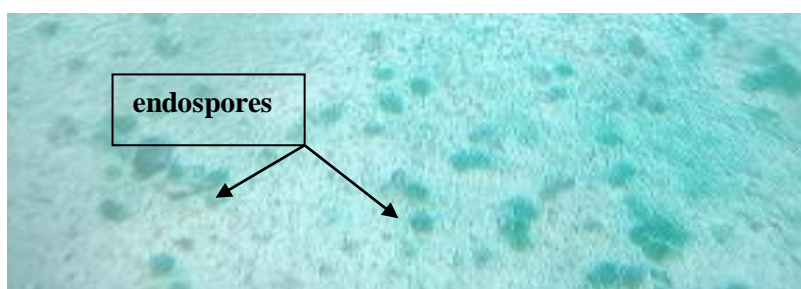
**Photo10 : Coloration de Gram des 10 isolats.**



Solen **Camille (2007)**, la plupart des espèces du genre *Bacillus* sont des bacilles à GRAM positif rarement à GRAM négatif car la coloration de GRAM n'est positive que dans les très jeunes cultures.

#### 4.3.2. Aspect microscopique par coloration de spores

La technique de coloration des endospores *Schaeffer-fulton* est appliquée aux bacilles qui ont développé une coloration positive de GRAM. Le résultat obtenu a montré que les spores apparaissent en couleur verte et que tous les isolats sont de caractère sporulant (**Photo.11**).



*Photo 11 : Test des endospores (Grossissement X 40).*

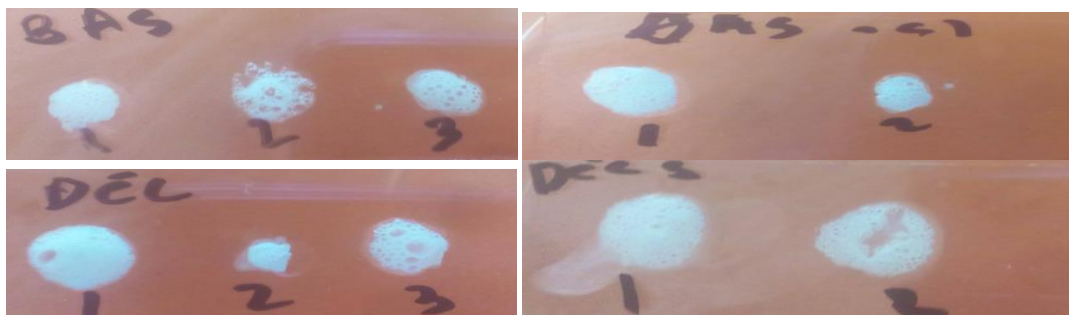
En se basant sur les caractéristiques morphologiques, en l'occurrence, macroscopiques et microscopiques, les 10 isolats bactériens obtenus appartenant au genre *Bacillus*.

#### 4.3.3. Tests biochimiques

##### 4.3.3.1. Test de catalase

Ce test a montré que les souches bactériennes (**Bas1S, Bas2S, Bas1, Bas2, Bas3, Déc1S, Déc2S, Déc1, Déc2, Déc3**). Présentent des bulles après le dépôt de l'eau oxygénée  $H_2O_2$ , signifiant qu'elles sont catalase positif (**PHOTO.12**).

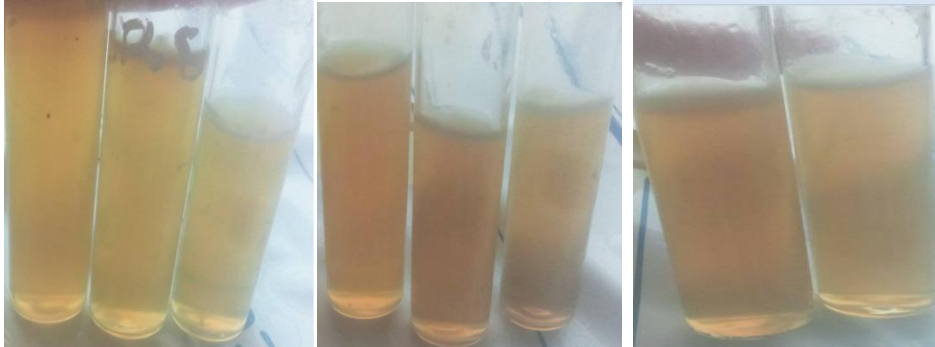
-L'enzyme catalase contient du fer qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ).



*Photo12: Résultats du test Catalase.*

#### 4.4.2. Type respiratoire

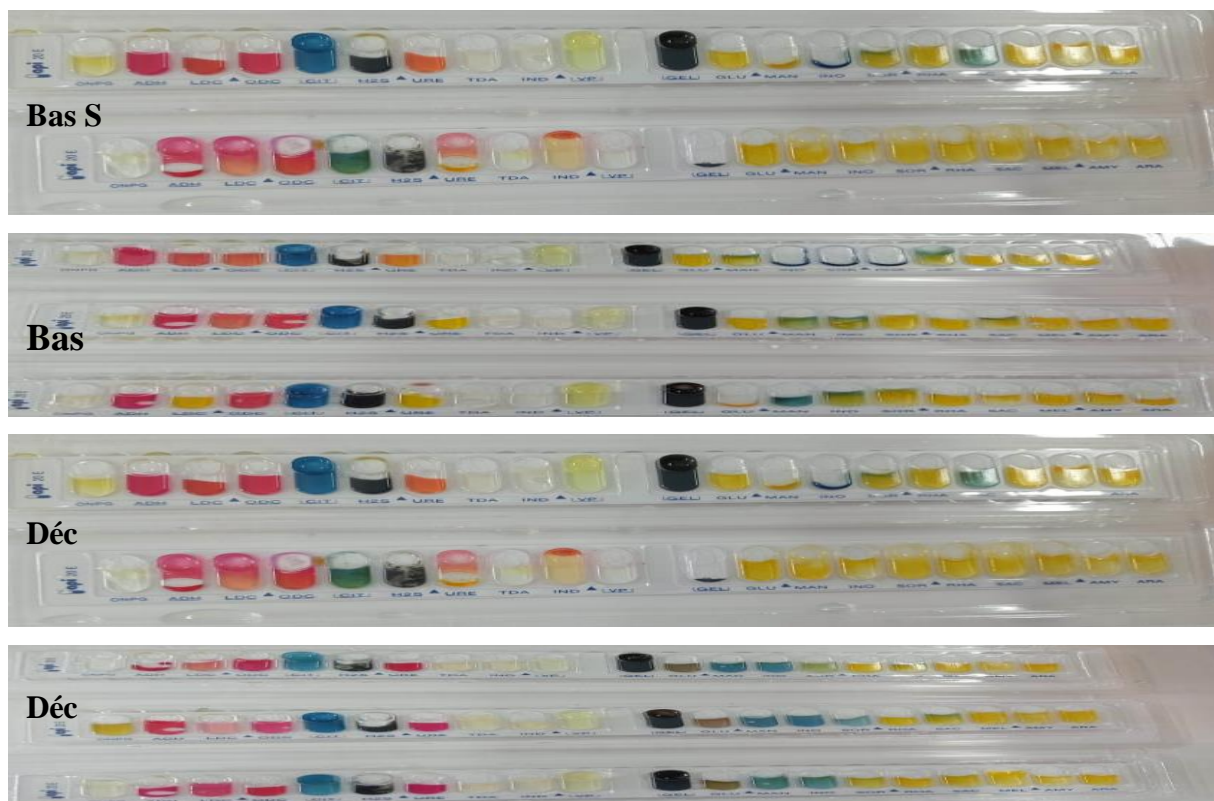
La culture des 10 souches obtenues sur milieu viande fois (VF), a montré que toutes les souches testées présentent une croissance sur toute la hauteur de la gélose, indiquant que les bactéries en question sont aéro-anaérobie facultatifs (**Photo.13**).



*Photo13 : Test de type respiratoire.*

#### 4.4.4. Fermentations de quelques substrats carbonés en utilisant la galerie API 20E

La galerie API 20E permettent l'identification préliminaire des microorganismes d'une façon rapide en effectuant des tests biochimiques miniaturisés pour l'identification des bactéries **Photo 14**.



*Photo14 : Tests API 20<sup>E</sup>.*

**Tableau 12 : Utilisation des différents substrats par les 10 isolats obtenus.**

Substrats	Souches bactériennes									
	Bas1S	Bas2S	Bas1	Bas2	Bas3	Déc1S	Déc2S	Déc1	Déc2	Déc3
<b>ONPG</b>	+**	+	+	+	+	+	+	-*	+	+
<b>ADH</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>LDC</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>ODC</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>CIT</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>H2S</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>TDA</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>IND</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>VP</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>GEL</b>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<b>Glucose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Mannitol</b>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<b>Inositol</b>	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
<b>Sorbitol</b>	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<b>Saccarose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**\*\* Test positif ; \* Test négatif**

L'étude des caractères réalisés à l'aide des préparations microscopiques, macroscopiques et les résultats des tests biochimiques en utilisant la galerie API 20 E sont résumés dans le tableau 8.



Tableau 13 : Tableau récapitulatif des différents résultats d'identification des isolats obtenus.

Souches bactériennes	Etat frais	Coloration de Gram	Coloration d'endospore	Catalase	Utilisation Du citrate	Utilisation du glucose	Utilisation du saccharose	Type respiratoire	Espèces présumées Et site d'isolement
<b>Bas1S</b>	Bacilles Moyens Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus licheniformis</i>
<b>Bas2S</b>	Bacilles Moyens Immobiles	+	+	+	-	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus megaterium</i>
<b>Bas1</b>	Bacilles Grande Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus coagulans</i>
<b>Bas2</b>	Bacilles Petits Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus cereus</i>
<b>Bas 3</b>	Bacilles Moyens Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus pumilus</i>
<b>Déc1S</b>	Bacilles Moyens Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus pumilus</i>
<b>Déc2S</b>	Bacilles Moyens Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus pumilus</i>
<b>Déc1</b>	Bacilles Moyens Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus sphaericus</i>
<b>Déc2</b>	Bacilles Grande Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus coagulans</i>
<b>Déc3</b>	Bacilles Grande Mobiles	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie facultatif	<i>Bacillus pumilus</i>

L'identification du genre de chacune des souches bactériennes (**Bas1S, Bas2S, Bas1, Bas2, Bas3, Déc1S, Déc2S, Déc1, Déc2, Déc3**).

L'analyse de ces résultats montre que les isolats **Bas 3, Déc1S, Déc2S, Déc3** probablement aux Genres *Bacillus pumilus* et Bas2S et Déc2 appartiennent au Genres *Bacillus coagulans*. Quant à Bas1S, elle appartient au Genres *Bacillus licheniformis*, Bas2S à celui de *Bacillus megaterium*, Bas2 à celui de *Bacillus cereus* et Déc1 à celui de *Bacillus sphaericus*.

### 3.4. Evaluation de l'effet probiotique des isolats bactériens

#### 3.4.1. Teste lécithinase

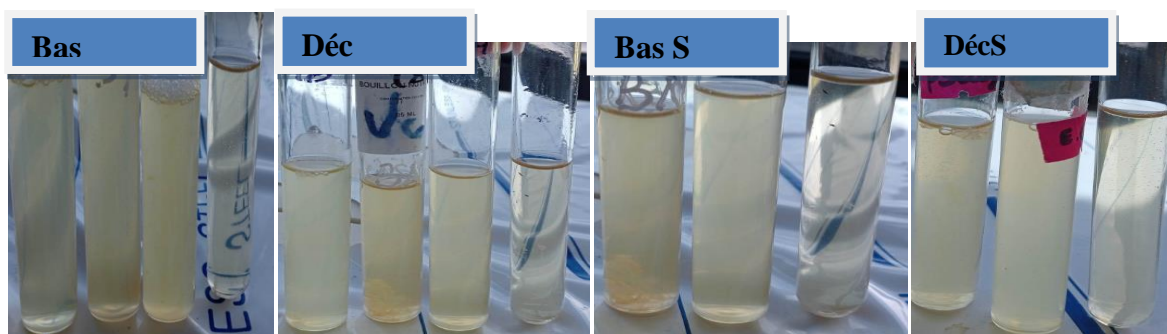
La culture des 10 souches obtenues sur la gélose au jaune d'œuf a montré que lécithinase de toutes les souches testées est négative et la coloration qui demeure jaune n'indique pas de réaction (**Photo.15**).



*Photo15 : Résultats de test lécithinase.*

#### 3.4.2. Résistance à l'acidité gastrique

Le test du pH sur milieu à pH 3.5, a montré un développement des dix souches révélé par un trouble blanchâtre dans les tubes après 48h d'incubation. La croissance des souches à pH bas est un signe positif de l'éventuelle résistance des isolats aux conditions gastriques (**Photo.16**)



*Photo16 : Test du pH sur bouillon nutritif à pH 3.5.*

### 3.4.3. Propriétés de surface et adhérence cellulaire

#### 3.4.3.1. Auto-agrégation

Les valeurs les plus élevées d'auto-agrégation ont été observées avec un pourcentage de 95 %, avec huit isolats (BAS2). Les isolats restants ont montré des pourcentages d'auto-agrégation plus bas allant de 65% jusqu'à 87%.

#### 3.4.3.2. Co-agrégation

La co-agrégation la plus élevée avec la souche d'*E. coli* a été observée avec sept isolats en l'occurrence : (Déc3) avec des pourcentages plus haut que 49%, tandis que pour les isolats restants, des pourcentages qui oscillent entre 26 et 46% ont été présentés (Fig.12).

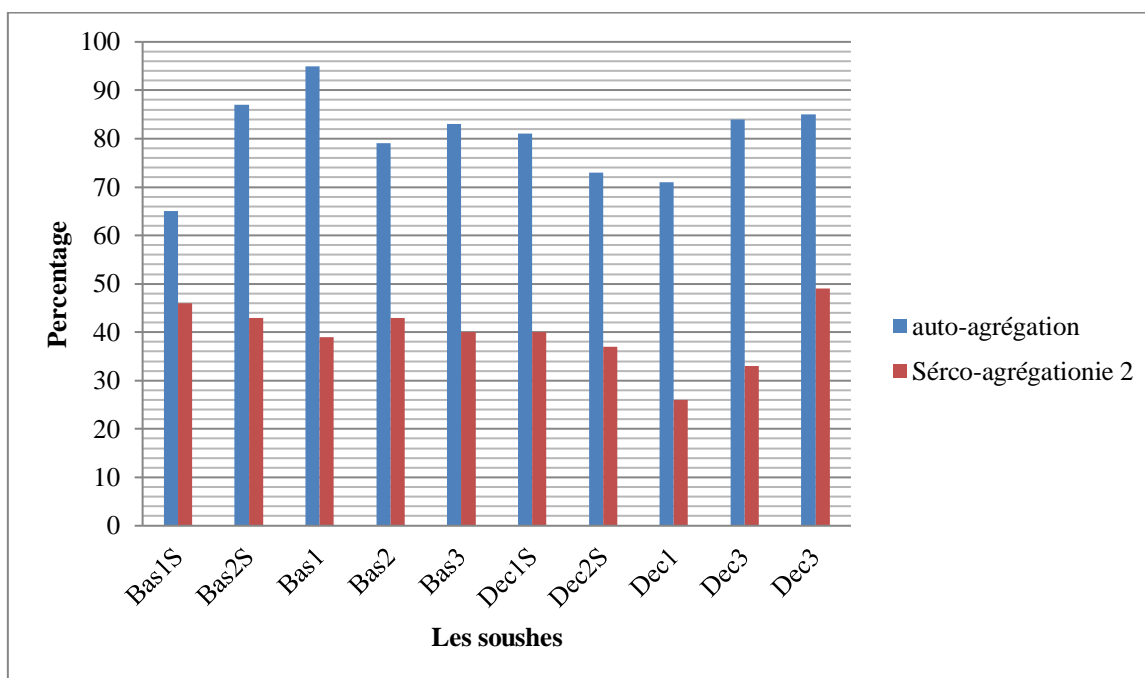


Figure 12: Pourcentages d'auto-agrégation et de co-agrégation des isolats sélectionnés.

## ***CHAPITRE V : DISCUSSION***

---

## CHAPITRE V : DISCUSSION

Les probiotiques sont des cultures de microorganismes vivants pouvant être administrés à un animal ou un être humain et qui ont un effet bénéfique grâce à une amélioration des propriétés de sa microflore indigène (**Havenaar et al., 1992**).

Les modes d'action des probiotiques varient d'une espèce à l'autre, mais il est reconnu que ceux-ci favorisent l'établissement d'un microbiote sain en réduisant les risques de colonisation du tube digestif par des organismes pathogènes. Les probiotiques augmentent finalement la digestion et l'absorption des nutriments et peuvent stimuler l'immunité (**Bajagai et al., 2016**).

L'étude bibliographique et les travaux réalisés ces dernières années ont permis de mettre en évidence que les souches de *Bacillus* utilisées en tant que probiotiques ne pouvaient pas être réellement considérées comme colonisatrices du tractus intestinal, mais plutôt comme des résidents transitoires du microbiote, pouvant s'adapter à l'écosystème intestinal au cours de leur cycle de vie. Il est possible d'augmenter le temps de séjour de ces souches dans le tractus si les conditions, notamment nutritionnelles, sont favorables. De plus, les souches de *Bacillus*, commercialisées sous forme de spores pour leur résistance aux conditions extrêmes de l'estomac, pourraient repasser sous forme de cellules végétatives une fois dans l'intestin si les conditions, notamment nutritionnelles redeviennent favorables (**Romain, 2014**).

Dans cette optique s'inscrit la logique de ce travail qui s'articule sur les objectifs suivants :

- Isolement des bactéries du genre *Bacillus* à partir de bous active
- Identification des isolats bactériens à potentiel probiotique
- Evaluation de l'effet probiotique des isolats bactériens.

Les échantillons des boues activées utilisés lors de ce travail ont été prélevés à partir des deux endroits de la station d'épuration des eaux usées : Bassin d'aération et décanteur primaire.

Dans cette étude 47 isolats bactériens ont été obtenus à partir des deux sites de prélèvement. L'analyse des résultats obtenus a montré que 34 isolats bactériens ont été obtenus à partir du bassin d'aération et 13 bactéries ont été isolées à partir du décanteur primaire.

Ces résultats montrent, en outre, que les souches bactériennes isolées sont considérées autochtones du site selon **Calvet (2003)**.

De plus, les isolats bactériens obtenus après l'étalement des dilutions sur milieu solide sélectif (LB) permet la sélection des espèces du genre *Bacillus* selon **Singleton (2005)**.

---

Après purification, seulement 10 isolats bactériens ont été sélectionnés pour la suite du travail.

Dans le but d'identifier les isolats sélectionnés à effet probiotiques une caractérisation morphologique basée sur l'observation macroscopique et microscopique et des tests biochimiques ont été effectués.

Les résultats obtenus montrent que la plupart des isolats bactériens **Bas1S, Bas2S, Bas1, Bas2, Bas3, Déc1S, Déc2S, Déc1, Déc2, Déc3** sont des colonies rondes et Gram positif à la coloration de Gram, possède des endospores, catalase positif, doté d'un métabolisme aéro-anérobies facultatif.

Pour les autres tests biochimiques, ils ont été réalisés en utilisant la galerie API 20 E juste pour apprécier les 20 tests présents sur cette plaque puisque normalement l'identification biochimique des bactéries du genre *Bacillus* se fait sur les plaques API 20 E les 10 souches ont été sélectionnées. En se basant sur leurs réponses aux différents tests physiologiques et biochimiques. Ce système est largement utilisé dans les méthodes d'identification pour les membres du genre *Bacillus*. D'ailleurs, des études ont montré que les meilleures reproductions des tests pourrait être réalisées avec des plaques API qu'avec les tests classiques surtout pour la taxonomie du genre *Bacillus* (De vos et al, 2009).

Les résultats de la galerie API 20 Démontrent que les isolats **Bas 3, Déc1S, Déc2S, Déc3**appartiennent aux Genres *Bacillus pumilus*, Bas2S et Déc2aux Genres *Bacillus coagulans*, **Bas1S** au Genre *Bacillus licheniformis*, Bas2Sau Genre *Bacillus megaterium*, **Bas2** au Genre *Bacillus cereus* et **Déc1** au Genre *Bacillus sphaericus*.

Dans la phase suivante de cette étude, les isolats sélectionnés ont été testés pour certaines propriétés probiotiques. Selon les recommandations de la F.A.O.et l'O.M.S., les bactéries utilisées comme complément probiotique sont généralement livrées dans un système Alimentaire et vont donc commencer leurs voyage vers le tractus intestinal inferieur par la bouche, le temps entre l'entré et la libération de l'estomac est d'environ 90 min. Pendant ce temps, les bactéries sont soumises aux stress. En outre plusieurs études indiquent que les bactéries ne survivent pas en nombre suffisant au cours de leur passage dans le tractus gastro-intestinal (Khater et al., 2010).

Les probiotiques devraient avoir la capacité de survivre dans les conditions gastro-intestinales pour pouvoir se transiter vers le côlon sous forme de cellules viables métaboliquement actives afin de conférer des effets thérapeutiques et nutritionnels pour l'hôte (Hyronimuset al., 2000).

Les résultats de l'acidité gastrique des isolats bactériens sont aussi capables d'éprouver une résistance au pH acide de l'estomac. Ceci est un critère incontournable de sélection des souches probiotiques d'après **FAO et OMS (2006)**. Le pH de l'estomac des personnes en bonne santé varie de 1 à 4 (**Angeliset al., 2006**).

Les critères tels que l'auto-agrégation, la co-agrégation, le récepteur d'électrons et l'hydrophobicité ont été évalués dans le présent travail.

L'auto-agrégation est une propriété recherchée qui présente la capacité des probiotique à s'agrèger aux autres membres de la même espèce et peut être observée microscopiquement pour la formation d'amas bactériens. L'agrégat de certains probiotiques peut exercer un effet bénéfique sur l'hôte, en empêchant les pathogènes d'atteindre la surface muqueuse pour coloniser ce dernier (**Rehamnia, 2023**). Les isolats sélectionnés ont montré des pourcentages élevés d'auto-agrégation allant de 65 à 95%.

D'autre part, la co-agrégation est la capacité des probiotique à s'agrèger avec des agents pathogènes et peut jouer un rôle dans l'exclusion des microorganismes pathogènes. En outre, a rapporté que les organismes non co-aggrégants sont facilement éliminés du système gastro-intestinal. Dans le présent travail.

l'aco-agrégation des isolats a été évaluée contre *E. coli*. Les isolats obtenus ont montré des propriétés de liaison élevée et des capacités d'adhésion aux agents pathogènes, qui peut refléter l'efficacité de colonisation du système gastro-intestinal, la capacité d'exclure les agents pathogènes et de favoriser l'immune modulation (**Rehamnia, 2023**).

## **Conclusion et perspectives**



## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif initial de cette étude est l'exploration des eaux usées riches en matière organique pour la recherche et l'isolement de Bactéries sporulantes développant des potentialités diverses en rapport avec la santé de l'Homme.

En effet, des isolats du genre *Bacillus* ont été obtenus à partir de boues activées. Ces isolats ont été criblés pour leurs potentialités probiotiques

Dix isolats identifiés dans la présente étude ont montré une capacité à dégrader deux substrats causant des troubles gastriques les plus courants en l'occurrence ; le lactose et le saccharose et ce, grâce à la production de bêta-galactosidase, enzyme extracellulaire qualifiée d'enzymes digestives.

Outre ces résultats, cette étude a montré également que dans les conditions *in vitro*, ces isolats manifestent une résistance aux conditions de suc gastrique, ce qui leur confère l'aptitude probiotique. Pour ce faire, les tests du *safety assessment* (lécithinase négatif) permettent, *a priori*, de les reconnaître, généralement, comme sans danger.

L'isolation des nombreuses probiotiques à partir des eaux usées, permettant de développer de nouvelles stratégies et de vision quant à la considération des boues activées comme étant des milieux des cultures.

Au terme de ce travail, on peut conclure que certains points demeurent incomplets et d'autres ont surgi, ce qui constitue des fenêtres pour une recherche future en particulier l'étude des propriétés probiotiques *in vivo* des isolats sélectionnés ainsi que la recherche de la présence des gènes de résistance aux antibiotiques dans les plasmides chez les isolats.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

**AIT BELGANAOU I A., 2006.** Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillus farciminis*) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress : rôle de la barrière épithéliale colique. Thèse de doctorat, unité de neuro-gastroentérologie et nutrition, INRA Toulouse, 1-203.

**AMIR S., 2005.** Contribution à la valorisation des boues de stations d'épuration par compostage : devenir des micropolluants métalliques et organiques et bilan humique du compost. Thèse doctorat, l'institut national polytechnique de toulouse, 341 page.

**REHAMANIA B., 2023.** Recherche et isolement de bactéries du genre *Bacillus* de différents écosystèmes particuliers algériens : étude de potentialités probiotiques et enzymatiques, Thèse de Doctorat, Université Frères Mentouri, Constantine 1.

**BENELMOUAZ A., 2015.** Performances épuratoires d'une station d'épuration de Maghnia , Mémoire de projet de fin d'études, Faculté de Technologie, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID, telemcen .

**BAHA S. ; BENSARI F., 2014.** Epuration des eaux usée domestique par les bous active : étude de la performance de la step d'aine el houtz , Mémoire de projet de fin d'études Faculté de Technologie, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID, telemcen

**BELAID N., 2010.** Evaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hajeb-Sfax: salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 236p.

**BOUKERROUCHA A., 2011.** Modélisation des stations d'épuration à boues activées cas de la station de Baraki (Alger).Mémoire de Magister, Ecole Nationale Supérieure d'agronomie El Harrach-Alger.23p,25p

**BAHA S. ; BENSARI F., 2014.** Epuration des eaux usée domestique par les bous active : étude de la performance de la step d'aine el houtz , Mémoire de projet de fin d'études Faculté de Technologie, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID, telemcen

**BRUNO E., 2012.** Sélection de bactéries probiotiques et amélioration de la survie et de la fonctionnalité d'une bactérie modèle, *Bifidobacterium bifidum*, par modification du potentiel d'oxydoréduction par bullage de gaz. Sciences de l'Alimentation..HAL .

**BARA R. ; HADJER D. , 2016.** Recherche de microorganismes de différents écosystèmes développant une activité probiotique. UniversitéFrère Mentouri de constantine.

**BENKADDOUR B., 2013.**Caractérisation des bifidobactéries isolées des selles des nourrissons et leur viabilité dans le lait de chemelle stérile : microbiologie fondamentale et appliquée. Mémoire de magister,université d'oran Es Senia. P.33.

**BAHRI F., 2014.** Isolment et caractérisation des souches de lactobacilles a caracteresprobiotiques a partir de selles d'enfants. Thèse de doctorat. Université Constantine I,p24.

**CHETTI W . ; FADHNOUNI E., 2021.** Contribution à l'évaluation du potentiel probiotique de bifidobactérium isolés à partir des selles de nourrissons. Université Mohamed Khider de Biskra .

**CHAOUCHI T . ; OULHADJ S., 2020.** Application des probiotiques dans le traitement des dysbioses intestinales.Diss.UniversiteAkli Mohand Oulhadj de Bouira.

**DANIÈLE F., 2014.** Le grand livre des probiotiques et des prébiotiques. Quotidien Malin, une marque des éditions Leduc.s

**DELLAGLIO F. ; FELIS G., 2005.** Taxonomy of Lactobacilli andBifidobacteria. [auteur du livre] G.W. TANNOCK. Probiotics and Prebiotics :Scientific Aspects. Norfolk : CaisterAcademicPress, , pp. 25-50.

**DEGREMONT R., 1978.** Mémento technique de l'eau .8 ème édition technique etdocumentation Lavoisier, 1200 p.

**DE VOS P.; GEORGE M.G.; DOROTHY J.; NOEL R.; WOLFGANG L; FRED A.R.; KARL-HEINZ S.; WILLIAM W.; 2009.** Bergeys Manual of Systematic Bacteriolog. 3<sup>ème</sup> édition. NewYork :Springer,. pp. 464-735. Vol.3.

**DZ ENTPREPRISE., 2016.** Alger: seules 20 unités industrielles disposent d'un système de prétraitement des rejets polluants, sur site dzentreprise.com .[Consulté le 13-mars 2023]. <https://www.dzentreprise.net/alger-seules-20-unites-industrielles-disposent-dun-systeme-de-pretraitement-rejets-polluants/>

**EDELIN F.,1992.** L'épuration physico-chimique des eaux, édition TEC et DOC, paris,184 p.

**EMILIE J., 2002.** composition organique de boues résiduares de stations d'épuration lorraines : caractérisation moléculaire et effets de la biodégradation Thèse de doctorat.Université Henri Poinca.

**FAO et OMS. 2001.** Rapport d'une consultation conjointe d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes ».

**FULLER R., 1989.** A review: Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Microbiology*. pp. 365-378.

**GAID A., 1984.** Epuration biologique des eaux usées urbaines tome I. édition OPU, Alger.

**GAID A., 1993.** Traitement des eaux usées urbaines .édition technique de l'ingénieur, traité environnement, France , volume C 5220,1-28.

**GROSCLAUDE G., 1999.** L'eau : Tome1.milieu naturel et maitrise. Éditeur INRA .204p.

**GIBSON, G.R., ROUZAUD, G., BROSTAFF, J. AND RAYMENT, R. (2005).** Final technical report for FSA project Ref G01022. An evaluation of probiotic effects in the humangut: microbialaspects

**Hill C.; GUARNER F.; REID G.; GIBSON G.; MERENSTEIN DJ.; POT B .; MORELLI L .; CANANI R B.; Flint HJ.; SALMINEN S .; CALDER PC.,2014.** Expert consensus document: The International Scientific Associationfor Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scopeand appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*.

**HADJ-SADOK F ., 1999.** Modélisation et estimation dans les bioréacteurs, prise en compte des incertitudes : application au traitement de l'eau .Thèse de doctorat, université de Nice-Sophia Antipolis, France.

**KRAA A., 2017.** Contribution à l'étude expérimentale du comportement physicochimique et rhéologique des boues de la station d'épuration de la ville d'Ain Beida. Mémoire de Fin de Etudes. Faculté des Sciences et Sciences Appliquées, Université Larbi Ben M'hidi Oum-El-Bouaghi .

**KATLEEN P., 2021.** Impact of dietary arachidonic acid intake on the gut microbiota and the gut- brain axis. Consequences for prevention of Alzheimer's disease by probiotics. *Food and Nutrition*. Université de Lorraine.

**LILLY D.; STILLWELL R ., 1965.** Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science.*, 147, pp. 747-748.

**LACHI S ; CELIA K., 2019.** Etude et identification des souches de *Lactobacillus* et *Lactococcus* productrices de bactériocines isolées du lait cru. Diss. Université Mouloud Mammeri .

**L'ASSOCIATION UFC-QUE., 2022.** L'assainissement collectif ou non collectif a pour objet l'évacuation et le traitement des eaux usées sur le site vosges.ufcquechoisir.fr [Consulté le 13-mars-2023].<https://vosges.ufcquechoisir.fr/2022/08/26/assainissement-des-eaux-usees-domestiques-pourquoi>

- LIU W.; PANG H.; ZHAN H., 2014.** Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. Lactic Acid Bacteria: Fundamentals and Practice.
- METCHNIKOFF E., 1907.** Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. The prolongation of life :Optimistic studies. Londres: G.P. Putnam Sons, pp. 161-183.
- MARY ELLEN S., 2016.** Probiotics: Definition, Sources, Selection, and Uses, Clinical Infectious Diseases, Volume 46, Issue Supplement.
- NOEMIE B., 2020.** Le microbiote intestinal, les probiotiques et leur place dans les pathologies digestives basses du nourrisson. Sciences pharmaceutiques.
- MAMPUYA F., 2020.** Conception d'une station expérimentale de traitement des eaux usées par filtres plantés des macrophytes, thèse de doctorat en Contrôle, Optimisation et Prospective d'Université Côte d'Azur, l'Université Kimpa Vita d'Uíge, Angola.
- MARIAL M., 2022.** Le développement des activités humaines s'accompagne inévitablement d'une production croissante de rejets polluants.
- MIMECHE L., 2014.** Etude de faisabilité de l'installation de station d'épuration des rejets urbains par les filtres plantés en milieu aride -Application à la région de Biskra, Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra
- MOUCHET P., 2000.** Traitement des eaux avant utilisation, matières particulaires. édition technique de l'ingénieur, traité environnement, volume G1173, 1-19p
- OUAKKAL, K ET TAMRABET, Z. 2019.** Isolement et identification des microorganismes à partir des boues activées (Station d'épuration de Chenoua de la wilaya de Tipaza). Mémoire de fin d'étude, Université de Blida 1
- PARKER B., 1974.** Probiotics, the other half of the antibiotics story. Animal Nutrition and Health., pp. 4-8.
- RODIER J., 2009.** analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, 9<sup>ème</sup> édition, Dunod, Paris, P1130.
- SAADI H., 2013.** Etude des performances d'un lit bactérien classique à garnissage en pouzzolane de Beni Saf, , Mémoire de projet de fin d'études Faculté de Technologie, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID, telemcen.
- SIDORENKO O.; M ZEMLYANVA M.; E VIALKOVA., 2018.** Investigation of probiotic agent influence on sewage quality and active sludge properties. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.
- ŚLIZEWSKA K.; MARKOWIAK-KOPEC P.; ŚLIZ EWSKA W., 2021.** The Role of Probiotics in Cancer Prevention. Cancers.

**SOUFIYA D., AIT AYANE K., 2009.** Valorisation agricole et énergétique des boues issues de l'épuration des eaux usées de la ville de Marrakech. Marrakech : Université Cadi Ayyad.

**THE UNIVERSALPROTEIN RESOURCE., 2015 .** Lactobacillales. UniProt.

**TORTORA, G., CAPUTO, R., DAMIANO, V., MELISI, D., BIANCO, R., FONTANINI, G., 2003.** Combination of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 and protein kinase A antisense causes cooperative antitumor and antiangiogenic effect. *Clinical cancer research*, 9(4), 1566-1572

**ZAHIR B., 2007.** Traitement des eaux usées par des procédés Biologiques classiques experimentation et modelisation, mémoire de projet de fin d'études, faculté des sciences de l'ingénieur, université ferhat abbas-setif. Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology&hepatology*

## Abstract

Many microorganisms in nature can exert a beneficial effect on human health. For this purpose, probiotic microorganisms act mainly by stimulating the intestinal flora and the immune system, essentially, through their interactions with the digestive contents. The exploration of active sludge samples in this case; Aeration basin, primary decanter, of the region of wadiAthmania located in the wilaya of mila. Resulted in 47 bacterial isolates. The identification of bacteria with presumed probiotic potential of the 10 isolates, based on the macroscopic, microscopic and biochemical study (API 20E gallery), revealed their belonging to the genus *Bacillus*. The strains Bas 3, Déc1S, Déc2S, Déc3 have been identified as *Bacillus pumilus*, the Bas2S and Déc2 strains belong to the genus *Bacillus coagulans*, Bas1S and Bas2S are The genera *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium* respectively, the Bas2 strains is of the genus *Bacillus cereus* and the genus of Dec1 is *Bacillus sphaericus*. In addition, three other tests have been developed to confirm the probiotic activity of selected strains; the lecithin study, resistance to gastric acidity and cell surface and adhesion properties showed a rich spectrum of probiotic potential.

**Key words:** Probiotics, *Bacillus*, Active sludge .



## الملخص

العديد من الكائنات الحية الدقيقة في الطبيعة يمكن أن يكون لها تأثير مفيد على صحة الإنسان. لهذا الغرض ، تعمل الكائنات الحية الدقيقة بروبيوتيك بشكل رئيسي عن طريق تحفيز النباتات المعوية والجهاز المناعي ، بشكل أساسي ، من خلال تفاعلاتها مع محتويات الجهاز الهضمي.

استكشاف عينات الحمأة النشطة في هذه الحالة ؛ حوض التهوية ، الدورق الأولي ، لمنطقة وادي العثمانية الواقعة في ولاية ميله. نتج عنه 47 عزلة بكتيرية. كشف تحديد البكتيريا ذات إمكانات البروبيوتيك المفترضة للعزلات ال 10 ، بناء على الدراسة العينية والمهجرية والكيميائية الحيوية (معرض API 20E) ، عن انتمائها إلى جنس *Bacillus*. تم تحديد سلالات Bas 3 و Déc1S و Déc2S و Déc3 على أنها *Bacillus pumilus* ، وتتنمي سلالات Bas2S و Déc2 إلى جنس *Bacillus coagulans* ، Bas1S و Bas2S هي أجناس *Bacillus licheniformis* ، و *Bacillus megaterium* على التوالي ، سلالات Bas2 هي من جنس *Bacillus cereus* و جنس Dec1 هو *Bacillus sphaericus*.

بالإضافة إلى ذلك ، تم تطوير ثلاثة اختبارات أخرى لتأكيد نشاط البروبيوتيك لسلالات مختارة. أظهرت دراسة الليسيثين ومقاومة حموضة المعدة و سطح الخلية وخصائص الالتصاق طيفا غنيا من إمكانات البروبيوتيك.

الكلمات المفتاحية : البروبيوتيك ، العصوية ، الحمأة النشطة

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : SEFIANI NOUR EL IMANE  
NAHLA CHERIAR

**Recherche et isolement des bactéries à partir des boues activées, Développement des aptitudes probiotique**

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et biothérapie**

**Résumé :**

Parmi les microorganismes bénéfiques pour la santé humaine, les probiotiques agissent principalement en stimulant la flore intestinale ainsi le système immunitaire, essentiellement, par leurs interactions avec le contenu digestif.

L'exploration des échantillons de boues activées prélevés du bassin d'aération et du décanteur primaire de la station d'épuration d'Oued Athmania située dans la wilaya de Mila a permis l'obtention de 47 isolats bactériens. L'étude macroscopique, microscopique et biochimique (galerie API 20E) des 10 isolats à potentiel probiotique présumé, ont révélé leur appartenance au genre *Bacillus pumilus*, *B. coagulans*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. cereus* et *B. sphaericus*. L'étude de la résistance à l'acidité gastrique, les propriétés de surface et l'adhérence cellulaire effectuées sur ces isolats ont pu confirmer l'activité probiotique des souches sélectionnées étayée par un riche spectre de potentiel probiotique.

**Mots-clefs :** Probiotiques, *Bacillus*, Boues actives.

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Mycologie, Biotechnologies et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM), (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Président :** Dr. AJROUD M. (MCB, Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadreur :** Dr. FRAHTIA K. (MCA, Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur:** Dr. OUIBRAHIM A. (MCB, Université Frères Mentouri, Constantine 1).