



Département de Biochimie-Microbiologie

Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

**Caractérisation physico-chimique et microbiologique des eaux
thermales de la source Hammam K'sana (Fraksa) à Bouira :
Etude du potentiel enzymatique des souches isolées**

Présenté par : Melle CHEKROUN Tassadit
Melle HADJ KADDOUR Baya
Melle INGRACHEN Assia

Soutenu le 15 /09 /2024, devant le jury composé de :

M ^{me}	DERMECHE S.	MCB	UMMTO	Présidente
M ^r	BOUACEM K.	MCA	UMMTO	Promoteur
M ^{me}	BERROUANE N.	MAA	UMMTO	Examinatrice

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

*Tout d'abord, nous remercions **DIEU**, le tout puissant, de nous avoir donné la foi, le courage, la patience et la volonté nécessaire afin de mener ce modeste travail, fruit d'un labeur de longues années d'études.*

*C'est avec un très grand plaisir que nous remercions infiniment notre promoteur **Mr BOUACEM K.**, Maître de Conférences Classe A à la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques (FSBSA), qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail. Qu'il trouve en ces mots toute notre gratitude, et nos sentiments de reconnaissance, pour sa confiance en nous, sa générosité et son engagement*

*Nous tenons aussi à remercier les membres du jury **Mme DERMECHE S.** Et **Mme BERROUANE N.** pour avoir bien voulu nous accorder leur temps précieux pour examiner ce travail.*

*Nous remercions **Mme Hamdad Soraya** pour son soutien constant, permanent et précieux et sa présence à nos côtés tout au long de notre stage.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à **Mr Zamoum H.** Et **Imad** pour leur aide. Nous exprimons notre gratitude sincère envers **Mr Talbi** directeur de gestion personnel CRD Boumerdes.*

*Nos sincères remerciements vont aussi à **Mr Alilache M.** Et **Mr Dahdouh M.** Pour leur soutien nos sincères remerciements vont aussi à **Mme Hallal T.** Chef de service de corrosion bactérienne et à **Mme Khanfar K.** Pour sa contribution, ses conseils et sa gentillesse. Un grand merci pour tous les membres du laboratoire de géochimie minérale et Environnement*

Merci

Dédicaces

*Au nom de Dieu le tout-puissant
J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail*

*À celle qui était et qui restera mon soutien dans cette vie, à celle qui m'a enseigné comment aimer le DIEU ; comment faire apparaître le succès et la prospérité au sein du mal et des problèmes...à toi **maman**, que DIEU te protège et te donne la pleine santé et le plein bonheur du monde.*

*À mon très **cher père**, qui a toujours été avec moi dans les bons et mauvais moments. Que ce travail te rend honoré et te comble de fierté.*

*À Mes très chers frères **Aziz, Saïd et Belkacem** et Mes très chères sœurs **Karima, Kahina, wassila, louiza et Drifa** et mes nièces **Mounia, Hadjer, Malek, Marissa**.*

*À Mes très chères amies et camarades qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours universitaire et qui sont comme des sœurs **Rachida, Nadia, Mima, Cylia, Saadia, Amira, Nassima, Imane et Sara**. Vous m'avez offert une épaule sur laquelle m'appuyer et des conseils avisés pour m'aider à avancer. Vous étiez là pour moi dans les moments de doute et d'incertitude, Alors que je continue mon chemin, je garderai en moi les souvenirs précieux que nous avons partagés. Je serai là pour vous de la même manière que vous l'êtes pour moi, prête à vous offrir mon soutien et ma gratitude sans fin. Je vous aime.*

*À mon trinôme **Assia et Baya**. Merci pour votre confiance et la bonté qui est sans limites.*

À Tous ceux qui ont cru en moi et m'ont soutenu.

À tous ceux qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

À vous chers lecteurs.

Tassadit

Dédicaces

Au nom de Dieu le tout- puissant

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail

*À ma très chère **maman SAMIA**, En rédigeant ces mots de remerciements, je réalise combien il est difficile de te témoigner toute ma gratitude. Tu es une source inépuisable d'amour, de soutien et d'inspiration. Je tiens à te dire à quel point je suis reconnaissante d'avoir une maman aussi incroyable que toi. Ma reconnaissance et mon respect pour toi sont infinis.*

*À mon très cher **père BELKACEM**, qui a toujours été à mes côtés dans les bons comme dans les mauvais moments. Que ce travail te rende honneur et te remplisse de fierté.*

*À mes chers frères **IBRAHIM et MOHEND OUL MOULOUD**, pour leur affection, leur compréhension, leur aide et leur patience. Je saisis cette occasion pour vous exprimer ma plus sincère gratitude.*

*À ma très chère sœur **DJOUHER**, qui m'a toujours encouragée à aller de l'avant, je te dis un immense merci pour tout ce que tu as fait et continues de faire pour moi. Je t'aime du fond du cœur et j'ai hâte de partager avec toi encore de nombreux moments de bonheur et de réussite.*

*À mes très chères petites sœurs **KENZA, TASSADIT.***

*À mes très chers amis : **Halim, Nassim, Rima et Melissa.** Vous m'avez offert une épaule sur laquelle m'appuyer, une oreille attentive pour écouter mes préoccupations et des conseils avisés pour m'aider à avancer. Vous étiez là pour moi dans les moments de doute et d'incertitude, m'encourageant à croire en moi-même et à ne jamais abandonner. En poursuivant mon chemin, je chérirai les souvenirs précieux que nous avons partagés. Je serai toujours là pour vous, tout comme vous l'avez été pour moi, prêt à vous offrir mon soutien et ma gratitude infinis.*

Je vous aime.

*À mes adorables et meilleurs trinômes **Assia, Dalila** merci pour votre confiance et votre bonté infinie. À tous ceux qui ont cru en moi et m'ont soutenu.*

À tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Et à vous, cher lecteur.

Baya

Dédicaces

Au nom de Dieu le tout- puissant

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail

A mes parents, pour votre soutien indéfectible et vos sacrifices sans fin. Votre amour et vos encouragements ont été ma lumière à travers ce voyage académique.

*À mon frère, **Amirouche** et mes sœurs, **Yasmina** et **Lynda**, pour leur soutien inconditionnel et leur mot d'encouragement qui ont nourri mon esprit et mon âme pendant cette période exigeante.*

*À mes amis **Yasmine**, **Souade**, **Chanele** et **Dyhia** et mes collègues **Dalila** et **Baya**, pour les moments de détente, les discussions inspirantes et le soutien moral qui m'ont rappelé l'importance de l'amitié et du travail d'équipe.*

À mes professeurs et mentors, pour votre expertise, vos conseils avisés et votre passion pour l'apprentissage qui m'ont guidé tout au long de ce parcours académique.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, je vous adresse ma profonde reconnaissance. Votre influence et votre soutien ont été essentiels à mon succès.

Je tiens par la présente à exprimer ma profonde gratitude pour les membres du jury, pour avoir accepté de faire partie du jury évaluant mon mémoire de fin d'études. Votre expertise et vos précieux commentaires ont grandement enrichi ce travail et m'ont permis de prendre de recul pour mieux appréhender les enjeux abordés.

Enfin, à moi-même, pour ma persévérance, ma détermination et ma foi en la possibilité de réaliser mes rêves. Ce mémoire est dédié à tous ceux qui croient en l'importance du savoir et de la recherche.

Assia

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1

Synthèse bibliographique

I. Notion sur les thermophiles.....	3
II. Source thermale.....	3
1. Définition.....	3
2. Origine	3
3. Classification des eaux thermales.....	4
4. Biotopes thermopiles	6
5. Description de quelques sources hydrothermales.....	6
5.1. Dans le monde.....	6
5.1.1. En Islande.....	7
5.1.2. En Turquie.....	7
5.2. Au Maghreb	8
5.3. En Algérie	8
III. Biodiversité des thermophiles.....	10
1. Arbre phylogénétique du vivant	10
2. Microorganismes les plus isolées à partir d'écosystèmes chauds	13
3. Adaptation aux conditions extrêmes.....	14
3.1. Protéines.....	14
3.2. Lipides	14
3.3. Acide nucléique.....	14
4. Applications biotechnologique des thermophiles	15
4.1. Récupération de métaux lourds.....	15
4.2. Biodégradation des hydrocarbures pétroliers.....	16
4.3. Dégradation de la kératine	16
4.4. Bioconversion de la lignocellulose en hydrogène.....	16
4.5. Traitement du cancer.....	16
IV. Production d'enzyme thermostable	17
1. Définition.....	17
2. Différents types d'enzymes	18

Matériel et Méthodes

I. Site d'étude.....	20
II. Matériel.....	20
1. Matériel non biologique.....	20

2. Matériel biologique.....	20
III. Méthodes.....	21
1. Échantillonnage	21
2. Analyse physico-chimique	21
2.1. Appréciation de la qualité organoleptique	21
2.2. Mesure de la température et du potentiel d'hydrogène	21
2.3. Mesure de la conductivité électrique	21
2.4. Mesure de la résistivité.....	22
2.5. Mesure de la turbidité.....	22
2.6. Mesure de la salinité.....	22
2.7. Dosage des anions et cations.....	22
2.8. Dosage de phenol, cyanure, azote	23
2.9. Dosage des chlorures par la méthode de Mohr	23
2.10. Demande biochimique en oxygène	23
2.11. Demande chimique en oxygène	23
2.12. Recherche des métaux lourds.....	24
3. Analyse microbiologique	24
3.1. Étude de la qualité sanitaire des eaux	24
3.2. Isolement et purification	26
3.3. Caractérisation des bactéries thermophiles	27
3.3.1. Étude morphologique	27
3.3.1.1. Observation macroscopique	27
3.3.1.2. Observation microscopique.....	27
3.3.2. Étude des caractères physiologiques	27
3.3.2.1. Influence du pH.....	27
3.3.2.2. Influence de la température	28
3.3.2.3. Influence de la salinité	28
4. Étude des caractères biochimique	28
5. Criblage d'activités enzymatiques	31
5.1. Amylase.....	31
5.2. Chitinases.....	31
5.3. Cellulase.....	31
5.4. Xylanases	31
5.5. Pectinase.....	31
5.6. Protéase	31

Résultats et discussion

I. Analyse physico-chimique de l'eau	32
1. Appréciation de la qualité organoleptique de l'eau.....	32
2. Paramètres physico-chimiques.....	32
3. Dosage des anions et des cations	33
4. Recherche des métaux lourds.....	35
II. Analyse de la microbiologie des eaux	36
1. L'analyse de la qualité sanitaire	36

2. Résultats de la caractérisation des souches	37
2.1. Études morphologique	37
2.1.1. Examen macroscopique	37
2.1.2. Examen microscopique	39
III. Etude des caractères biochimiques	40
IV. Caractérisation physiologique des souches	44
1. Influence du pH sur la croissance	44
2. Influence de la température sur la croissance	44
3. Influence de la salinité sur la croissance	44
V. Mise en évidence de l'activité enzymatique	48
Conclusion.....	53
Références bibliographiques	54

Liste des abréviations

A : Aérobie.

AAF : Aéro-anaérobie facultatif.

AS : Aérobie stricte.

Cat : Catalase.

Cit P : Citrate perméase.

CN⁻ : Cyanure.

DBO_{5j} : Demande biochimique en oxygène sur 5 jours.

DCO : Demande chimique en oxygène.

GN: Gélose nutritive.

ICP-OES: Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy.

Ind: Indole.

LCK: Liquid chromatography kit.

Manit : Mannitol.

Mob : Mobilité.

NR : Nitrate réductase.

NTU : Unité de turbidité néphélométrie.

NH₄ : Ammonium.

ONPG : O-Ni tro phényl-bêta-D-galactopyranoside.

Oxy: Oxydase.

RM : Rouge de Méthyle.

T.S.A : Tryptone soja agar.

VP : Test de voges proskauer.

Liste des figures

Figure 1 : Exemple de biotopes naturels chauds	6
Figure 2 : Usine géothermique svatsengerdi et le bassin d'eau chaude au premier plan.....	7
Figure 3 : Hiéropolis-Pamukkale.....	7
Figure 4 : Source thermal Sidi Harazem –Maroc.....	8
Figure 5 : Source d'eau chaude Ain Atrous Korbous Tunisie	8
Figure 6 : Arbre phylogénétique repect les trois domaines du vivant	11
Figure 7 : Différentes applications des microorganismes thermophiles	15
Figure 8 : Localisation géographique de la source thermale hammam K'sana	20
Figure 9 : Site du prélèvement au niveau de la source thermale Hammam K'sana.....	21
Figure 10 : Résultats de la composition ionique d'eau thermale étudiée.....	33
Figure 11 : Composition en métaux lourds d'eaux étudiée.....	35
Figure 12 : Aspect macroscopique de quelques souches isolées	38
Figure 13 : Observation à l'état fixé des souches HKS1, HKS2, HKS10	39
Figure 14 : Observation à l'état frais des souches HKS2, HKS3, HKS4.....	39
Figure15 : Culture des souches à différents concentration de pH.....	47
Figure16 : Culture des souches à différent températures	47
Figure 17 : Culture des souches à différents concentration de NaCl	47
Figure 18 : Mise en évidence de l'activité enzymatique chez les souches isolées.....	50
Figure19 : La capacité des souches isolées dans la production d'enzymes	51

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des eaux thermales selon la température d'émergence	4
Tableau II : Classification des eaux thermales en fonction de la conductivité.....	5
Tableau III : Classification des eaux thermales en fonction de la valeur du pH.....	5
Tableau IV : Liste des principales sources thermales algériennes.....	9
Tableau V : Orientation thérapeutique et exemples d'eaux thermales algériennes	10
Tableau VI : Germes recherchés et les milieux utilisés.....	25
Tableau VII : Milieux utilisés pour les isolements.....	26
Tableau VIII : Testes biochimiques effectués pour identification des souches isolées	29
Tableau IX : Résultats de l'analyse physico-chimique.....	32
Tableau X : Résultats de l'analyse microbiologique des eaux de Hammam K'sana.....	36
Tableau XI : Caractères macroscopiques des souches isolées.....	38
Tableau XII : Etude microscopique à l'état frais et à l'état fixé des souches isolées.....	40
Tableau XIII : Résultats de la galerie biochimique des souches recherchées	43
Tableau XIV : Résultats de l'influence de la température, la salinité et le pH sur la croissance des souches isolées	45
Tableau XV : Résultats des activités enzymatiques recherchées.....	48

Introduction

« Nous les avons alors séparés et Nous avons produit à partir de l'eau toute chose vivante. Comment ne croient-ils pas ? » (Surat Elanbia, verset : 30)

L'eau est un élément important pour la survie et la continuité de tous les êtres vivants. Elle se présente dans la nature de plusieurs types : souterraine, minérale, douce, dure, thermale, etc.

Les sources thermales ont été identifiées comme des habitats naturels favorables à l'établissement des bactéries thermophiles, capable d'une adaptation remarquable à des températures extrêmes. Ces microorganismes ont développé une diversité en lien avec les particularités géologiques et les caractéristiques physico-chimiques, incluant les écarts de température (**Pandey et al., 2015**). L'Algérie renferme de multiples sources d'eaux chaudes naturelles, généralement situées dans les zones montagneuses ou à proximité des zones volcaniques, créant ainsi un cadre magnifique pour bénéficier de leurs propriétés thérapeutiques.

La découverte de groupes microbiens dans ces milieux a révélé que ces microorganismes en raison de leur potentiel énorme dans la production des enzymes thermostables, ont gagné une importance considérable dans le monde scientifique. Leurs propriétés permettent de multiples applications dans les secteurs pharmaceutiques et industriels (**Franzetti, 2019**).

Dans le cadre de l'étude d'enzymes thermostables présentant un intérêt industriel, nous nous focalisons sur la caractérisation préliminaire des bactéries thermophiles provenant de la source chaude Hammam K'sana située dans la région de Bouira. Ensuite nous procéderons au criblage de leurs activités enzymatiques extracellulaires.

À travers cette étude, nous allons essayer de répondre à la question suivante : notre source d'intérêt contient-elle des souches bactériennes capables de produire des enzymes d'intérêt biotechnologique ?

Pour ce faire, nous suivons les étapes suivantes :

- ✚ Evaluer la richesse et la diversité de la population microbienne de cette source.
- ✚ Déterminer si les isolats de cette source possèdent des activités enzymatiques intéressantes.

En effet, les travaux effectués au cours de ce mémoire au centre de recherche et développement nous ont permis de répondre à certaines questions concernant la composition physico-chimique et la qualité sanitaire de notre eau ainsi que la connaissance de la biodiversité bactérienne que cette eau héberge notamment les bactéries thermophiles à intérêt biotechnologique.

Ce manuscrit est structuré en trois parties principales, après cette introduction : la première partie aborde des notions fondamentales et des définitions relatives aux sources thermales dans le monde, en Algérie et au Maghreb, ainsi que des rappels sur les microorganismes thermophiles, leur biodiversité, leur écologie, leurs mécanismes d'adaptation, et les enzymes

qu'ils produisent et leur intérêt biotechnologique. La deuxième partie décrit la démarche expérimentale, réalisée au centre de recherche et développement ainsi qu'au laboratoire pédagogique de microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, en détaillant le matériel et les méthodes utilisés pour mener à bien l'étude. Enfin, la dernière partie présente une analyse des résultats obtenus, permettant d'en tirer des conclusions et d'envisager des perspectives futures

Synthèse
bibliographique

I. Notions sur les thermophiles

Un environnement est qualifié d'extrême lorsque ses paramètres physico-chimiques sont souvent hostiles à la vie, ce qui entraîne une spécialisation ou une réduction de la biodiversité. Ces conditions incluent, par exemple, un pH inférieur à 5 ou supérieur à 9, une pression au-delà de 20 MPa, des températures supérieures à 50°C ou inférieures à 10°C, ainsi que des concentrations en sels (NaCl) de 3-4 %, pouvant aller jusqu'à saturation à 35 % (**Grégoire et al., 2009**).

Parmi ces environnements extrêmes, les sources chaudes représentent des habitats propices au développement de microorganismes spécifiques, appelés thermophiles. Ces organismes se caractérisent par leur capacité à survivre et croître à des températures élevées. Les thermophiles se classent en quatre sous-catégories (**Stetter, 1999 ; Righi et Chaa, 2022**) :

- Thermophiles modérés : leur température de croissance optimale se situe entre 55 et 65°C.
- Thermophiles extrêmes : ils présentent une température optimale de croissance entre 65 et 80°C.
- Hyperthermophiles : leur température de croissance optimale dépasse 80°C.
- Hyperthermophiles extrêmes : ils se développent à des températures supérieures ou égales à 105°C.

Ces microorganismes thermophiles constituent une source importante d'étude, notamment en raison de leurs mécanismes d'adaptation aux environnements hostiles et du potentiel biotechnologique de certaines enzymes qu'ils produisent.

II. Sources thermales

Les sources thermales sont des sources géothermiques naturelles ou des rejets naturels d'eaux souterraines ayant une température élevée par rapport à leur environnement (**Sherpa et al., 2013**). Les civilisations anciennes vénéraient les sources thermales parce qu'on leur prêtait des pouvoirs surnaturels et curatifs (**La Moreaux et Tanner, 2001**).

1. Définition

Les sources chaudes sur terre sont des environnements qui aident les microorganismes à vivre. Ces sources fournissent de l'eau et des produits chimiques spéciaux qui donnent de l'énergie et des nutriments aux microorganismes (**Des Marais and Walter, 2019**). Des chercheurs ont étudié la matière organique et les variations de température et de pression dans les sources chaudes, liées à l'origine de la vie. Ils ont trouvé des composés organiques potentiellement liés à la vie et observé comment les fluctuations de température et de pression peuvent influencer la chimie prébiotique (**Koel et al., 2019**).

2. Origine

Les eaux thermo-minérales, par nature chaudes, sont associées à des zones actives de

différentes profondeurs. Des études sur leur origine thermique et leur minéralisation ont révélé que : **(a)** Chaleur des eaux est souvent liée à des failles et parfois à des activités volcaniques récentes ou en cours, attribuée au gradient géothermique normal ; **(b)** La plupart des minéraux dissous proviennent soit de la dissolution directe des roches environnantes, soit de l'hydrolyse.

L'eau thermique peut avoir trois origines : superficielle, profonde ou mixte (**Nicholson, 2012 ; Panichi and La Ruffa, 2009**).

2.1. Origine superficielle : est due aux eaux de précipitations, froides, infiltrées à de grandes profondeurs de l'écorce terrestre par gravité et capillarité, le long de fissures de terrains imperméables. L'émergence de ces eaux vers la surface s'effectue aux niveaux des fissures à partir de terrains poreux, par des griffons à travers un système de convection. Dans ce cas les eaux thermales sont appelées eaux vadoses ou météoriques.

2.2. Origine profonde : est due à la condensation progressive d'émanations gazeuses (vapeur et gaz) du magma (régions volcaniques), se refroidissant pendant leur remontée. Les eaux résultant sont appelées eaux juvéniles.

2.3. Origine mixte : elle résulte d'un mélange, dans des proportions variables lors de leur remontée, entre des eaux juvéniles d'origine profonde et des eaux vadoses superficielles.

3. Classification des eaux thermales

D'après le décret du 21 février 2007 du journal officiel algérien n°13, il n'y a pas de propriétés communes aux eaux des stations thermales recensées. Plusieurs types de classification ont été proposés pour désigner les eaux thermales, la classification chimique et la classification physique : chimiquement en fonction de leur ion prédominant ou physiquement en fonction de leur pH, de leur conductivité ou de leur température à l'émergence (**Issaâdi, 1992 ; Dib, 2008**).

- La mesure de la température permet d'avoir des renseignements sur l'origine et la circulation des eaux thermales en profondeur et le mode d'alimentation.

Selon **Issaâdi (1992)**, quatre types d'eaux thermales sont désignés en fonction de la température (**Tableau I**).

Tableau I : Classification des eaux thermales selon leur température (Issaâdi, 1992)

Désignation	Température à l'émergence °C
Eaux froides	Moins de 20°C
Eaux hypothermales	20 à 35 °C
Eaux thermals	35 à 50 °C
Eaux hyperthermales	Au-dessus de 50°C

3.1 Classification en fonction de la conductivité électrique

La conductivité électrique c'est la propriété qu'à une eau pour conduire le courant électrique. Cela dépend de la qualité d'ions que renferme celle-ci ainsi que sa température. Selon leur conductivité, les sources thermales sont regroupées dans quatre classes (**Tableau II**).

Tableau II : Classification des eaux thermales, selon leur conductivité (Issaâdi, 1992)

Désignation	Conductivité
Classe 1	< 2000 $\mu\text{S/cm}$: concernent les sources liées aux réservoirs en contact avec les roches carbonatées.
Classe 2	Comprises entre 2000 et 7500 $\mu\text{S/cm}$.
Classe 3	fluctuent entre 7500 et 15000 $\mu\text{S/cm}$.
Classe 4	>15 000 $\mu\text{S/cm}$: Ce sont des eaux Très chargées dont la minéralisation est largement influencée par les évaporites. Elles sont pour la plupart hyperthermales.

3.2 Classification en fonction de la valeur du pH

L'eau thermale est classée en acide, neutre ou alcaline ; la géologie du sol et des roches profondes traversées par cette eau influence grandement son pH (**Tableau III**).

Tableau III : Classification des eaux thermales en fonction de la valeur du pH (Subtavewung et al., 2005)

Valeur de pH	Type de l'eau thermale
$2 < \text{pH} \leq 4$	Acide
$6 \leq \text{pH} \leq 7,5$	Neutre
$7,5 < \text{pH} < 9$	Alcaline

3.3 Classification en fonction de l'ion prédominant

Cette classification exprime la richesse ou la pauvreté en anions et en cations qui déterminent l'effet thérapeutique de cette eau au cours d'une cure. Cette eau peut être classée comme suit :

Eau sulfatée $\rightarrow \text{SO}_4^{-}$ > 200 mg/L ; Eau calcique $\rightarrow \text{Ca}^{++}$ >150 mg/L ; Eau sodique $\rightarrow \text{Na}^+$ >200 mg/L ; Eau bicarbonatée $\rightarrow \text{HCO}_3$ >600 mg/L ; Eau magnésienne $\rightarrow \text{Mg}^{++}$ >50 mg/L ; Eau chlorurée $\rightarrow \text{Cl}^-$ >200 mg/L ; Eau fluorée $\rightarrow \text{F}^-$ >1 mg/L ; Eau ferrugineuse $\rightarrow \text{Fe}$ >5 mg/L

4. Biotopes thermophiles

Les biotopes les plus communs dans lesquels vivent les thermophiles sont divers tels que les sources hydrothermales des grands fonds, les sources chaudes terrestres et d'autres sites extrêmes, notamment les régions volcaniques, les failles tectoniquement actives et les matières en décomposition comme le compost (Panda *et al.*, 2018).

Les mouvements de la croûte terrestre ont généré à la surface du globe des zones d'anfractuosités où de l'eau (de mer ou douce) entre parfois en contact avec le magma profond. Ces zones sont le siège de phénomènes hydrothermaux. Le parcours de cette eau va conditionner sa composition chimique des fluides hydrothermaux qui est un facteur très important qui peut avoir une influence directe sur la distribution de la biocénose hydrothermale et sa forme d'émergence tel que les geysers, correspondent à l'émission d'un fluide très minéralisé qui a traversé profondément la croûte terrestre et qui ressort violemment à 100°C exemple (Parc de Yellowstone (USA) ou qui recercler sur de longues distances dans la lithosphère pour ressortir sous formes des fumerolles (Des bruyères *et al.*, 2016).

5. Description de quelques sources hydrothermales

5.1. Dans le monde

Les sources géothermiques se trouvent sur tous les continents, mais leur distribution varie (Hussein *et al.*, 2017). Les sources les plus célèbres se trouvent généralement dans les zones volcaniques comme l'Islande, Japon, Italie, Nouvelle Zélande, Turquie et Hongrie (Figure 1). Cependant, la biodiversité dans ces sources diminue généralement avec l'augmentation de la température et la baisse du pH (Amarouch *et al.*, 2015).

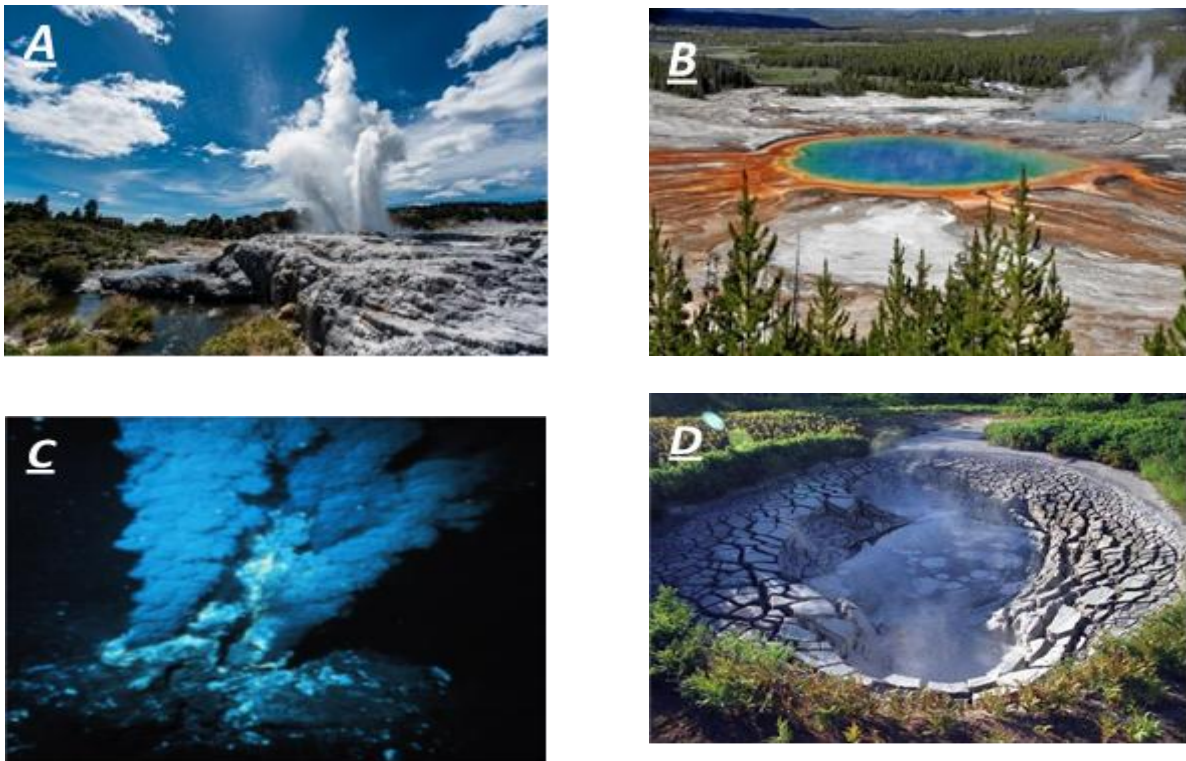


Figure 1 : Exemples de quelques source thermales. A. Geyser Pohutu (Nouvelle-Zélande) [1] B. Parc national de Yellowstone (Etats Unis) [2], Fumeur noir dans l'océan Atlantique [3], Etats-Unis, D. Uzon Caldera (Russie) [4].

5.1.1. En Islande

Le système de bains, qui inclut des saunas et des bains chauds. Le bassin de 3,5 millions de litres d'eau est constitué de 75 % d'eaux de mer et de 25 % d'eaux douces, sans chlore en raison de sa température élevée de 36 à 40 °C. La présence de minéraux, de silice et de microorganismes dans l'eau a des effets positifs sur la peau, ce qui permet de traiter des maladies comme l'eczéma et le psoriasis. Le bassin (**Figure 2**) a une teinte turquoise en raison de sa présence de silice, de la pureté de l'eau et de la présence de microbes Bleus (**Laslaz, 2017**).



Figure 2 : Usine géothermique de Svatsengerdi et le bassin d'eau chaude au premier plan (Laslaz, 2017)

5.1.2. En Turquie

Les champs géothermiques en Turquie sont remarquables pour leur grande variété thermique et chimique, avec une activité volcanique récente, des défailances de blocs et des sources de chaleur dépassant 100 °C (**Vengosh et al., 2002**). Leur température varie entre 32 et 68 °C. Les eaux souterraines profondes sont plus fraîches, entre 15 et 20,1 °C, tandis que les eaux peu profondes sont entre 12 et 16 °C (**Alçiçek et al., 2019**) (**Figure 3**).



Figure 3 : Hiéropolis-Pamukkale [5]

5.2. Au Maghreb

Les nombreuses sources thermales identifiées dans la région du Maghreb sont :

5.2.1. Maroc : plus de 117 sources thermales, réparties sur six zones thermales : Nord-est, Rif et Sud-Rifaine, Centre, Moyen-Atlas, Haut-Atlas, et Anti-Atlas et Sahara (**Slimani et Alaoui, 2013**). Les plus connues sont : Moulay Yaâcoub (54°C), Aïn Allah (45°C) et Sidi Harazem (35°C) ; (**Figure 4**).

5.2.2. Tunisie : un potentiel thermal de plus de 80 sources thermominérales (**Chulli et al., 2012**). Elles se répartissent selon trois régions : La région du Nord-Ouest (Jendouba), la région du Nord Est (Nabeul ou en trouve la station thermale korbous (**Figure 5**) et Zaghouan et la région Sud Est (Médénine). Les plus réputées sont Hammam Sollah (73°C) et Hammam Jedidi (82°C).



Figure 4: Source thermale Sidi Harazem Maroc [6]



Figure 5 : Source d'eau chaude Ain Atrous Korbous Tunisie [7]

5.3. En Algérie

L'Algérie possède un potentiel géothermique significatif, illustré par la présence de multiples sources hydrothermales réparties sur tout le territoire national. Ces eaux thermales se distinguent non seulement par leur abondance, mais également par leur richesse en éléments minéraux essentiels, tels que le calcium, le magnésium, et le sodium, leur conférant des propriétés thérapeutiques et un intérêt scientifique (**Saibi, 2015**).

En effet, plus de 280 sources thermales ont été répertoriées avec des températures allant de 18°C à 98°C (**Bouacem et al., 2022**). Ce nombre augmente régulièrement quand on se déplace vers l'Est. Ci-dessous un aperçu sur quelques sources thermales parmi les plus connues et les plus fréquentées, (**Tableau IV**).

Tableau IV : Liste des principales sources thermales algériennes, leur situation et la température de leurs eaux (Dib, 1985 ; Lahlou et *al.*, 1998 ; Bahri et *al.*, 2011)

Source thermal	Wilaya	T (C°)	Région	
Hammam Righa	Ain Defla	64	Nord	
Hammam Melouane	Blida	39		
Hammam El Sharef Hammam El Mosrane	Djelfa	35 40	Sud	
Hammam Essalihine	Biskra	45		
Hammam Timoudi	Bechar	30		
Hammam Roussette	Ouargla	50		
Hammam Zelfana	Ghardaïa	42		
Hammam Dalâa	Msila	42		
Hammam Zaoui Hammam Aïn Skhouna Hammam El Hamma	Constantine	34 35 43		Est
Hammam Ksenna	Bouira	64		
Hammam Sidi-Yahia Aïdli Hammam Kéria (Assif El Hammam) Hammam Sillal	Béjaia	52 44 45		
Hammam El Bibanes Hammam Ibâinen	Bordj Bou Arreridj	72		
Hammam Chellala (Meskoutine) Hammam Ouled Ali	Guelma	93 56		
Hammam Telghema Hammam Béni Guécha Hammam Souna	Mila	42 58 46		
Hammam Beni Salah Hammam Zatout Hammam Sidi Trad	El Taref	52 48 64		
Hammam Essalihine Hammam Knif	Khenchela	50 50		
Hammam Soukhna Hammam Guergour	Sétif	42 41		
Hammam Tassa Hammam Zaïd (Ouled Driss)	Souk Ahras	39 40		
Hammam Azzaba Hammam Djazzar (Gosbate)	Skikda Batna	44 41		
Hammam Rabbi Hammam Essoukhna	Saida	42	Ouest	
Hammam Aïn El Menbâ Hammam Aïn El Village Hammam Bouhanifia	Mascara	58 62 72		

Ces sources thermales constituent des environnements écologiques qui abritent une grande communauté de bactéries aérobies thermophiles, qui présentent des propriétés bénéfiques et prometteuses sur le plan biotechnologique (**Bouacem et al., 2014 ; Bouanane et al., 2016**) et il n'y a que huit stations thermales médicalisées parmi les nombreuses. Nous citons dans le **Tableau V** quelques sources thermales aux effets thérapeutiques connus.

Tableau V : Orientations thérapeutiques et exemples d'eaux thermales algériennes (Issaadi, 1992 ; Boughlali, 2003 ; Hani, 2006 ; Ouali, 2008)

Exemple de sources thermales	Orientations thérapeutiques
(Eaux sulfurées) Salihine (Biskra), Tassa (SoukAhras), Sidi trad (El kala), Rabbi (Saida), El-Biban (Bordj), Guergour (Setif).	Rhumatologie, ORL, Respiratoire, Dermatologie, Gynécologie.
(Eaux sulfatées) Righa (Ain-Defla), Boughrara (Meghnia), Djendel (Annaba)	Neurologie, Rhumatologie, Dermatologie, Stomatologie, Affection du rein et du foie.
(Eaux ferrugineuses) Melouane (Blida), Tniet el-had (Tissemsilt)	Anémies, Obésité, Rhumatologie, Affections hépatiques, biliaires, dermatologiques, Bouleversement du développement infantile.
(Eaux bicarbonatées) Bou Hanifia (Mascara)	Diabète, Phlébologie, Rhumatologie et pathologies digestives.
(Eaux alcalines) Bouhadjar (AinTimouchent), Bouhanifia (Mascara), Berrouaghia (Medéa)	Rhumatologie, Névralgies, Sciatique

III. Biodiversité des thermophiles

1. Arbre phylogénétique des vivants

Les procaryotes hyperthermophiles ont été découverts à la fin des années 70 en même temps que le domaine des *Archaea* (**Woese et al., 1990**). L'analyse des séquences des acides nucléiques en taxonomie moléculaire a permis de classer les microorganismes et d'établir les lignées phylogénétiques (**Pace, 1997**).

Les microorganismes thermophiles, qu'ils appartiennent aux *Bacteria* ou aux *Archaea*, occupent des positions profondes dans l'arbre phylogénétique du vivant (**Figure 6**), suggérant ainsi que la vie pourrait avoir émergé dans des environnements chauds. Cependant, cette théorie est contestée par plusieurs études, dont celle de **Forterre (2007)**, qui a démontré que

l'ancêtre commun des bactéries et des archées était mésophile, et que l'adaptation ultérieure aux températures élevées s'est produite grâce à des transferts horizontaux de gènes. En outre, **Brochier-Armanet et al. (2008)**, ont identifié une nouvelle lignée (la 5^{ème}) des *archées*, appelée *Thaumarchaeota*, regroupant des souches mésophiles qui seraient situées encore plus bas dans l'arbre phylogénétique que les autres lignées archéennes connues à ce jour.

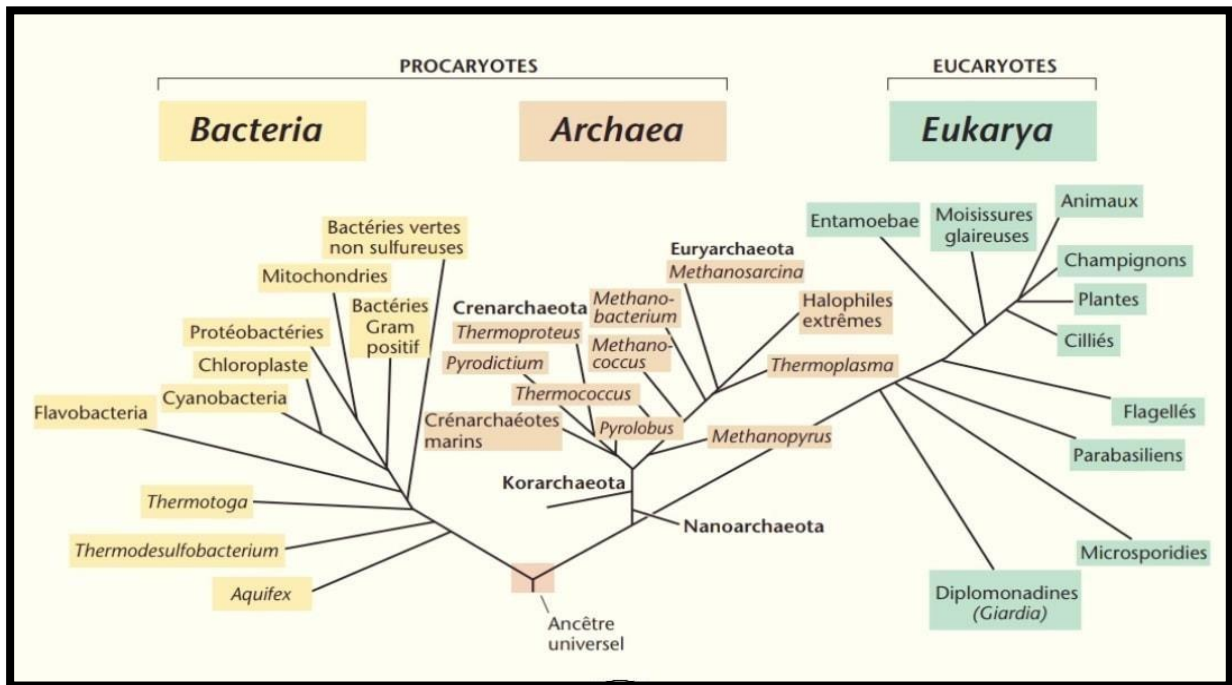


Figure 6 : Arbre phylogénétique des trois domaines du vivant [8]

1.1. Bacteria

La diversité des caractéristiques physiologiques et métaboliques des microorganismes thermophiles du domaine *Bacteria* est très étendue, comprenant des phototrophes, des chimiolithotrophes, des autotrophes et des hétérotrophes.

1.1.1. Bactéries thermophiles hétérotrophes

La majorité des bactéries thermophiles identifiées sont des organismes hétérotrophes. Parmi eux, un seul groupe peut être qualifié d'hyperthermophile : les *Thermotogales*. Ces thermophiles sont entourés d'une gaine appelée "une toge" qui entoure la cellule. *Thermotoga* a été trouvée des événements hydrothermaux, des sources terrestres et des puits de pétrole. *Thermotoga* spp est une espèce fermentaire qui se développe mieux en anaérobiose en utilisant du thiosulfate comme accepteur d'électrons. Les thermales sont un autre groupe d'hétérotrophes obligatoires, où *Thermus aquaticus* a été la première espèce isolée d'une source thermale alcaline dans le Parc National de Yellowstone (**Guezennec, 2004**).

La matière organique est utilisée comme donneur et accepteur d'électrons par la plupart des isolats, comme *Bacillus vulcani* et *Clostridium fervidus*, tandis que certaines espèces utilisent des composés inorganiques comme accepteurs d'électrons. *Thermoterrabacterium ferrireducens* diminue la teneur en fer ferrique, tandis que *Ammonifex degensii* nécessite des

nitrate, des sulfates et du soufre élémentaire (Fardeau *et al.*, 2004 ; Urios *et al.*, 2004 ; Kublanov *et al.*, 2007).

On a également découvert des représentants de la classe des *Deltaproteobacteria* provenant d'écosystèmes thermiques. Il s'agit de sulfato-réducteurs qui font appel à des composés organiques comme donneurs d'électrons (*Desulfacinum hydrothermale*, *Thermodesulfo-rhabdus norvegicus*) ; (Ferrera et Reysenbach, 2007 ; Holden, 2009).

1.1.2. Bactéries thermophiles phototrophes

La photosynthèse oxygénée est principalement réalisée par les cyanobactéries. Elles se trouvent dans les régions chaudes où les températures sont assez élevées. Selon le genre *Chloroflexus*, *Synechococcus* crée des tapis microbiens épais à des températures allant de 60 à 74°C, et ils cohabitent fréquemment avec des bactéries phototrophes anaérobies. Il s'agit de bactéries filamenteuses qui ont une capacité à se déplacer de manière glissante. Elles renferment des chlorosomes, des vésicules à pigments (Ferris *et al.*, 1996 ; Ferrera et Reysenbach, 2007).

On peut également trouver d'autres photoautotrophes anoxygéniques dans les sources thermales, comme les bactéries pourpres sulfureuses (*Proteobacteria*) et vertes sulfureuses (*Chlorobi*). Dans les milieux sulfureux, ces organismes transforment le sulfure en soufre qui se trouve à l'intérieur (*Proteobacteria*) ou à l'extérieur (*Chlorobi*) de la cellule, puis le transforment en sulfate (Ferrera et Reysenbach, 2007).

1.1.3. Bactéries thermophiles chimiolithoautotrophes

Certaines bactéries ont la capacité de fixer le dioxyde de carbone par l'énergie chimique (chimiolitho-autotrophie). Les bactéries isolées à partir des événements hydrothermaux sont principalement de la famille des *Epsilonproteobacteria*, des ordres des Thermales, des *Thermotogales* et des *Aquificales*. Les bactéries de l'ordre *Aquificales* se servent d'hydrogène, de soufre et de thiosulfate pour donner des électrons et d'oxygène et/ou de nitrates pour recevoir des électrons. Certaines espèces de cet ordre peuvent également se développer sur des substances organiques. Les *Thiotrix* et *Thiobacillus*, qui sont des bactéries oxydantes des sulfures, sont également présents dans ces catégories. Ces petits bacilles à Gram négatif peuvent se développer à des pH très acides, tandis que d'autres peuvent se développer à des températures élevées (Capdepuy and Canellas, 1995 ; Ferrera et Reysenbach, 2007).

1.2. Archaea

Chez les *Archaea* thermophiles et hyperthermophiles, il existe deux principaux phylums : *Euryarchaeota* et *Crenarchaeota* (Hacène *et al.*, 2004), celui des *Euryarchaeota* regroupant des hyperthermophiles (croissance possible jusqu'à 110°C pour certains) producteurs de méthane ou *Methanoarchaea*, le plus souvent chimiolitho-autotrophes et des chimio-organotrophes. On distingue chez les *Methanoarchaea* en particulier, les *Methanococcales* isolées d'environnements hydrothermaux sous-marins ou terrestres (Grégoire *et al.*, 2009).

Le phylum des *Crenarchaeota* contient en majorités de microorganismes chimiolitho-autotrophes et quelques espèces chimio-organotrophes. On citera en particulier les Sulfolobales, qui sont plutôt spécifiques des habitats chauds terrestres alors que les *Desulfurococcales* colonisent essentiellement les habitats volcaniques sous-marins (Grégoire et al., 2009 ; Susanti et al., 2016).

2. Microorganismes les plus isolées à partir d'écosystèmes chauds

Les micro-organismes thermophiles se développent dans divers écosystèmes marins et terrestres tels que les sources hydrothermales, les eaux profondes, le compost et les sources chaudes ; la plupart d'entre eux proviennent de ce dernier habitat (Oztas and Gormez, 2020). Permis ces microorganismes isolés de ces écosystèmes :

- Dans les environnements hydrothermaux alcalins du parc national de Tengchong Rehai (Chine), 102 brins de champignons thermophiles ont été identifiés dans une plage de température de 47 à 71 °C. Plus précisément, *Thermomyces lanuginosus* et *Scytalidium thermophilum* se sont avérés dominants dans des conditions de températures extrêmes (Pan et al., 2010).

-*Thermus thermophilus*, isolé d'une source chaude japonaise, est une bactérie aérobie qui se développe optimalement entre 70°C et 80°C, utilisé pour l'étude des protéines cristallisables. (Swarup et al., 2014).

-*Bacillus barbaricus*, *Aeromonas veroni* et *Stenotrophomonas maltophilia* : des souches bactériennes ont été isolées à partir des échantillons d'eau collectés à la source chaude de Taptapani, à Odisha Inde (Sen et al., 2014).

-Le genre *Caldicellulosiruptor bescii*, récemment reclassé d'*Anaerocellum thermophilum*, se développe à 75°C. Elle a été isolée dans la vallée des geysers, sur la péninsule du Kamtchatka, en Russie. Le système génétique a permis de modifier *C. bescii* pour produire de l'éthanol et augmenter la production d'hydrogène. Un gène codant pour une enzyme contenant du tungstène a également été exprimé avec succès, démontrant la capacité de l'organisme à assimiler ce métal rare (Scott et al., 2015).

-*Anoxybacillus*, *Geobacillus*, *Bacillus*, *Brevibacillus* et *Aeribacillus* ont été isolés à partir des différentes régions de la Turquie (Guven et al., 2018).

-*Propionispira*, *Desulforegula*, *Desulfobacter* et *Desulfococcus* et *Symbiobacterium* ont été identifiés à partir de la source chaude de Xifeng en chine (Wu et al., 2023).

-Des souches bactériennes appartenant aux genres *Anoxybacillus*, *Bacillus*, *Anerunibacillus*, *Paenibacillus* et *Deinococcus* ayant des températures de croissance optimales de 50 et 55 °C ont été isolées et identifiées à partir d'une source chaude à Hidalgo, au Mexique (Ortega-Villar et al., 2024).

3. Adaptation aux conditions extrêmes

La vie à haute température est rendue possible par les thermophiles car elles ont développé de nombreux systèmes d'adaptations physiologiques et biochimiques. Une analyse de biomolécules chez les bactéries thermophiles a révélé des différences structurales subtiles dans les protéines, les acides nucléiques et lipides (**Alain et al., 2010**).

3.1. Protéines

La plupart des thermophiles sont connus pour incorporer une quantité élevée d'acides aminés chargés (Asp, Glu, Arg et Lys) comparativement aux acides aminés polaires (Asn, Gln, Ser et Thr) dans leurs protéines, provoquant une augmentation importante du nombre de ponts de sel intramoléculaires.

Néanmoins, Les processus intrinsèques les plus couramment observés utilisent : une augmentation des interactions de Van der Waals et des interactions ioniques ; une hydrophobicité accrue ; une extension du nombre et de la taille des réseaux de liaisons hydrogène ; une densité de compaction plus élevée ; une diminution de la longueur des boucles de surface et une oligomérisation des protéines (**Holden, 2009 ; Quérellou and Guezennec, 2010**).

En plus de ces facteurs intrinsèques, il existe de nombreux facteurs extrinsèques qui contribuent à la thermostabilité des protéines. Ils incluent des protéines chaperonnes thermosomes rencontrées chez les archées hyperthermophiles. Elles sont thermostables et résistantes à la protéolyse. Les chaperonines de *Sulfolobus solfataricus* empêchent l'agrégation de la protéine-cible dénaturée et catalysent son repliement par addition d'ions K⁺. (**Santos et al., 2011**).

3.2. Lipides

Une des particularités les plus remarquables des archées ; c'est la composition chimique des lipides membranaires. Les lipides d'archées se distinguent principalement par la présence de liaisons éthers entre le glycérol et les chaînes d'acides gras, ainsi que par les propriétés uniques des lipides tétraéther bipolaires qui leur permettent de créer des films monocouches stables. Ces lipides atypiques bipolaires jouent un rôle crucial dans l'adaptation aux conditions extrêmes des milieux où les archées se multiplient. Quant aux phosphoglycérides des bactéries et des eucaryotes qui renferment des liaisons esters et une tête polaire, ils permettent de créer des bicouches qui séparent deux compartiments aqueux (**Rawlings and Johnson, 2007**).

3.3. Acides nucléiques

Tous les hyperthermophiles produisent une ADN topoisomérase appelée ADN gyrase reverse. Cette topoisomérase provoque la formation de surenroulement positif de l'ADN au contraire des ADN gyrases présentes chez tous les procaryotes non thermophiles (surenroulement négatif) (**Madigan and Martinko, 2007**), et il est aussi responsable de la stabilisation de la double hélice d'ADN et la préservation de la dénaturation thermique.

4. Applications biotechnologique des thermophiles

Les thermophiles ont deux types d'applications biotechnologiques. Le premier type utilise directement ces organismes pour la biolixiviation et la bioremédiation. Le second type utilise les biomolécules produites par les thermophiles, comme les enzymes, les protéines, les lipides, les polymères et divers métabolites secondaires (Aissat and Mekki., 2019). Certaines de ces applications sont illustrées dans la figure 7 ci-dessous.

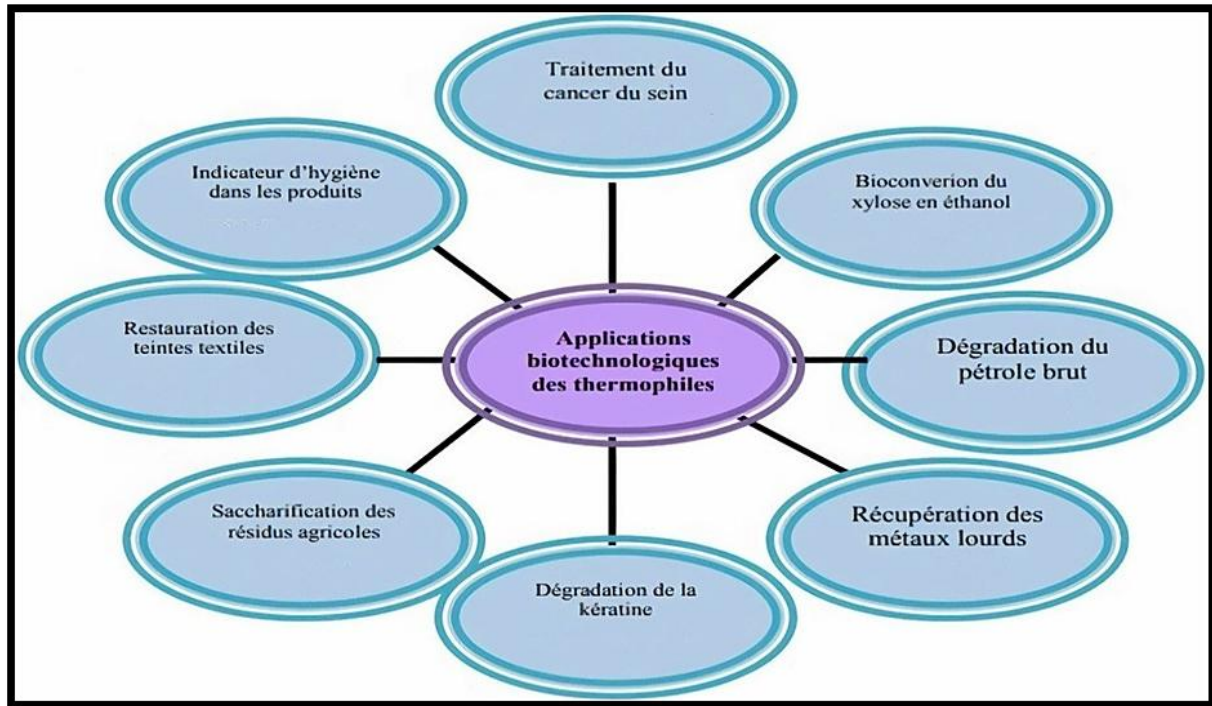


Figure 7 : Différentes applications des microorganismes thermophiles (Mehta et al., 2016)

4.1. Récupération de métaux lourds

Les microorganismes ont différentes façons d'interagir avec les métaux lourds, ce qui rend la mobilité et la solubilité des métaux plus faibles. Les bactéries métallifères et sulfato-réductrices possèdent une physiologie adaptée pour la production des métaux. Ces microorganismes produisent des produits métaboliques tels que le fer et le sulfure d'hydrogène, ce qui génère des minéraux. La réaction entre ces minéraux et les métaux lourds peut provoquer une précipitation, donc une détoxification (Chalaal and Islam, 2001).

Dans le but de saisir l'élimination de ces types de toxines, Chalaal and Islam, (2001) ont employé deux souches des bactéries thermophiles provenant de la famille des *Bacillus.sp*, isolées d'un courant d'eau chaude, pour éliminer le strontium des systèmes à courant d'eau. Ces bactéries étaient capables de concentrer le strontium d'un côté d'un bioréacteur à deux compartiments. L'utilisation de microorganismes produisant des sulfures pour immobiliser les métaux lourds s'est avérée être une méthode efficace pour traiter certains sites contaminés par des métaux (Pasti-Grigsby et al., 1996).

4.2. Biodégradation des hydrocarbures pétroliers

La dégradation microbienne du pétrole brut et des polluants pétroliers raffinés a également été réalisée en utilisant des thermophiles. **April et al. (2000)** ont étudié ce processus par des populations mixtes, des cultures pures et des mutants génétiques. Ils ont mis en évidence la diminution des composés parentaux et ils ont examiné les résultats des attaques bactériennes sur les pétroles bruts en utilisant la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse. L'utilisation des thermophiles, constitue un potentiel important de dégradation des polluants environnementaux, y compris toutes les grandes classes. Les dégradateurs d'hydrocarbures thermophiles indigènes revêtent une importance particulière pour la biorestauration des sols désertiques pollués par le pétrole (**Margesin and Schinner, 2001**).

4.3. Dégradation de la kératine

Une bactérie thermophile, *Fervidobacterium pennavorans*, de l'ordre des *Thermotogales*, a été découverte dans les sources chaudes de l'île des Açores. Elle se développe à une température optimale de 70 °C et à un pH 5,5. Il s'agit du premier thermophile connu qui a la capacité de dégrader les plumes naturelles à une température extrême. Les plumes pourraient être transformées en produits spécifiques tels que les acides aminés rares, la sérine, la cystéine et la proline (**Friedrich and Antranikian, 1996**).

4.4. Bioconversion de la lignocellulose en hydrogène

Les sources chaudes peuvent être utilisées comme une source potentielle d'hydrogène thermophile (H₂) et de micro-organismes qui produisent de l'éthanol. Les thermophiles sont plus résistantes à la dégradation de la cellulose et à la production d'hydrogène donc un taux de cellulose plus rapide à des températures élevées (**Wiegel and Ljungdahl, 1986 ; Blumer-Schuette et al., 2008**). La production d'hydrogène à base de CBP (Consolidated Bioprocessing), a été réalisée en utilisant des co-cultures des bactéries cellulolytiques thermophiles telles que *Clostridium thermocellum*, des bactéries anaérobies thermophiles non cellulolytiques et la bactérie cellulolytique extrêmement thermophile *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* (**Liu et al., 2008 ; Ivanova et al., 2009**). Différentes espèces de *Thermoanaerobacterium*, telles que *T. thermosaccharolyticum*, *T. polysaccharolyticum*, *T. zea*, *T. lactoethylicum*, *T. aotearoense* et *T. saccharolyticum*, ont la capacité d'utiliser différentes macromolécules avec une production d'H₂ (**Hoster et al., 2001 ; Thong et al., 2008 ; Ren et al., 2008**).

4.5. Traitement du cancer

Les agents chimio-thérapeutiques conventionnels ne sont généralement pas spécifiques des cellules cancéreuses et inhibent la progression de toute cellule en division. Le Terrein, un suppresseur des cellules cancéreuses du sein exprimant BCRP (Breast Cancer Resistance Protein) ont été isolés de *Aspergillus terreus* thermophile. Terrein, a présenté une forte cytotoxicité contre les cellules MCF-7 du cancer du sein.

Le traitement par terrain a considérablement réduit la prolifération des cellules cancéreuses du sein qui expriment BCRP. Cet effet suppresseur a été obtenu en induisant l'apoptose *via* l'activation de la voie de la caspase-7 et l'inhibition de la voie de signalisation Akt. Cela a conduit à une baisse du nombre de cellules présentant BCRP et à une diminution du phénotype de la population secondaire (Liao et al., 2012).

IV. Production enzymes thermostables

1. Définition

Les enzymes sont des protéines qui jouent un rôle de catalyseurs biologiques, en accélérant les réactions et en catalysant les fonctions de réaction chimique (Choi et al., 2015 ; Robinson, 2015). Les enzymes issues des thermophiles ont attiré l'attention de nombreuses entreprises, telles que les industries pharmaceutiques, des détergents, du textile, de l'alimentation humaine et animale, du cuir et du papier, ainsi que les bioraffineries (Desai, 2011).

Ces enzymes sont appelées « enzymes thermostables », cela dit, elles peuvent supporter des températures élevées, généralement situées entre 45 °C et 120 °C (Rigoldi et al., 2018). Ces enzymes ont suscité un intérêt biotechnologique en raison de leurs multiples avantages pour l'industrie, tels qu'un taux de croissance rapide, une réduction du risque de contamination, une réduction de la viscosité du liquide (Arbab et al., 2022), ainsi que la capacité à résister à la protéolyse et à la dénaturation chimique.

La Taq polymérase étant la première enzyme thermostable à être signalée en 1976 (Chien et al., 1976). Elle a été découverte dans les sources thermales du parc national de Yellowstone en 1969 et isolée du *Thermus Aquaticus*. La température idéale pour l'activité a été déterminée entre 75 et 80 °C, avec une demi-vie de 2 h à 92,5 °C, 40 min à 95 °C et 9 min à 97,5 °C. Lawyer et al., (1993) a été adopté pour l'application de la PCR classique en raison de sa thermostabilité. Un autre ADN polymérase, *Thermus thermophilus*, est spécialement utilisé dans la RT-PCR (Reverse transcription) en raison de son activité de transcription inverse distincte (Ishino and Ishino, 2013).

La thermostabilité des enzymes est souvent une propriété inhérente qui est déterminée par la structure initiale de la protéine. Elles présentaient une teneur accrue en acides aminés non polaires (Das et Gerstein, 2000). Ces acides aminés accroissent la flexibilité des protéines, ce qui les dirige vers la poche catalytique et accroît leur rigidité (Goodenough and John, 1991). En outre, les acides aminés les plus chargés modifient également les interactions électrostatiques dans la partie externe de la protéine, ce qui entraîne une interaction plus importante entre les paires d'ions (Sadeghi et al., 2006), ainsi que présentent des liaisons disulfures et des liaisons hydrophobes plus élevées. Ces critères renforcent la rigidité de la structure des enzymes.

2. Différents types d'enzymes

Parmi les microorganismes thermophiles, une grande variété d'enzymes a été identifiée, incluant des cellulases, des amylases, des xylanases, des pectinases, des protéases et des lipases (Reetz et al., 2006). Des taxons tels que *Bacillus*, *Clostridium*, *Pyrococcus*, *Thermus*, *Thermotoga* et *Aquifex* sont connus pour produire des enzymes spécifiques telles que l'amylase, la lipase, la cellulase, la xylanase, la phosphatase alcaline, la polymérase et la ligase (Sharma et al., 2019).

2.1. Amylases

Les amylases sont des enzymes clés qui décomposent l'amidon en sucres simples comme le fructose, le glucose et le maltose. Elles sont divisées en endoamylases et exoamylases. Certaines bactéries actinomycètes, telles que *Streptomyces erumpens* et *Thermobifida fusca*, produisent des amylases qui agissent à l'extérieur de leurs cellules, facilitant une digestion extracellulaire. Ces enzymes résistantes à la chaleur sont largement utilisées dans des industries variées comme la boulangerie, la pharmacie, la production de papier et les détergents. En particulier, les amylases des souches d'actinomycètes alcaliphiles sont bénéfiques pour améliorer l'efficacité des détergents. Environ un quart des enzymes utilisées dans le monde proviennent des amylases de *Streptomyces* spp. Soulignant leur importance cruciale dans la biotechnologie industrielle (Mukhtar et al., 2018).

2.2. Protéases

Les enzymes protéolytiques sont polyvalentes, principalement utilisées dans divers domaines comme les produits lessiviels pour décomposer les taches de protéines, ainsi que dans l'industrie fromagère, brassicole et boulangerie. Issues généralement de microorganismes mésophiles tels que *Bacillus*, ces enzymes sont largement commercialisées par des entreprises comme Novozymes (Coker, 2016).

2.3. Lipases

L'industrie des enzymes lipasiques vaut des milliards de dollars en raison de la diversité de leurs substrats, de leur spécificité et de leur stabilité. Malgré leur activité extrême dans les détergents lessives et la synthèse organique, la plupart des enzymes lipasiques sont des mésophiles, provenant généralement de bactéries comme *Bacillus* et *Aspergillus*, actives à haute température. Les lipases thermophiles de *Bacillus* sont plus efficaces que les enzymes actuelles (Coker, 2016).

2.4. Cellulases

Les cellulases sont essentielles pour la production de biocarburants et d'enzymes industrielles car elles convertissent la cellulose en sucres fermentescibles. Les cellulases produites par *Streptomyces* spp comme *S. ruber*, *S. lividans* et *S. rutgersensis*, sont sensibles à la chaleur et trouvent leur utilisation dans divers secteurs tels que les détergents, les textiles, les additifs alimentaires pour animaux, le papier et la pâte. En revanche, les cellulases

adaptées aux environnements extrêmes, telles que celles de *Thermobifida*, sont stables à des températures élevées et à des pH élevés (Mukhtar et al., 2018).

2.5. Xylanases

Les hémicellulases thermostables, comme les xylanases, ont transformé le processus de bioblanchiment du papier en réduisant la pollution due aux halogènes. Elles dégradent le xylane, principal composant des hémicelluloses végétales, en xylooligosaccharides par l'action des endoxylanases. Ces enzymes sont aussi efficaces dans l'industrie alimentaire animale, convertissant les polymères en xylose et en glucose. Utilisées comme pré-blanchisseurs dans la production de pâte à papier, elles diminuent l'indice Kappa et réduisent l'utilisation de chlore. Les xylanases thermophiles, telles celles présentes chez *Pyrodictium abyssi*, *Thermotoga thermarum*, *Thermotoga neapolitana*, *Thermotoga maritima* et la souche FjSS3-B, conservent leur activité à des températures supérieures à 100 °C (Verma and Kanwar, 2012).

Matériel et méthodes

Ce travail a été effectué au niveau du centre de recherche et développement (CRD) de Boumerdès et au laboratoire pédagogique de microbiologie à la Faculté des Science Biologique et des Sciences Agronomique (UMMTO) durant une période de trois mois s'étalant du mois d'avril jusqu'à la fin du mois de Juin 2024. Il a pour objectif l'étude des propriétés physico-chimiques, microbiologique et l'évaluation de la qualité sanitaire de l'eau thermique de Hammam k'sana ainsi que le criblage enzymatique des souches isolée à partir de cette source.

I. Site d'étude

La source thermique Hammam K'sana est située à 34 km au Sud de la wilaya de Bouira et à 20 km, comme elle le montre la **figure 8**. La source thermique de Hammam K'sana fait l'objet de nombreux témoignages sur ses vertus thérapeutiques et sa fréquentation depuis les temps les plus reculé.

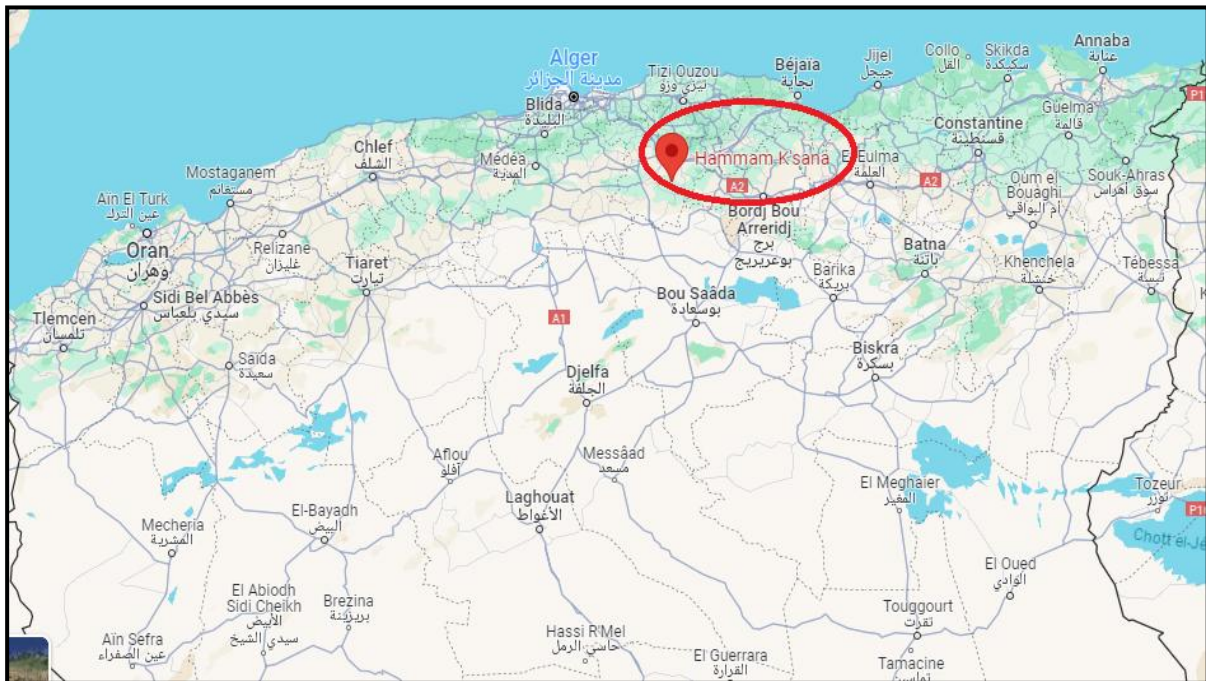


Figure 8 : Localisation géographique de la source thermique hammam K'sana [9]

II. Matériel

1. Matériel non biologique

Le matériel et l'appareillage utilisés dans cette étude sont cités dans le **tableau I** en **annexe 1**.

2. Matériel biologique

Les souches bactériennes utilisées ont été isolées à partir d'un échantillon d'eau de la station thermique Hammam K'sana à Bouira.

III. Méthodes

1. Échantillonnage

On premier lieu nous avons mis des gants jetables stériles, puis on a ouvert soigneusement le flacon stérile sans toucher l'intérieur du flacon. Ensuite, on a rempli le flacon jusqu'à ce qu'il soit complètement rempli. Enfin, on a refermé hermétiquement le flacon sans toucher le bord intérieur. Selon leur destination, les échantillons sont pris dans des flacons en verre stériles de 250 mL pour les analyses microbiologiques et une bouteille en plastiques de 1 litre bien nettoyée pour les analyses physicochimiques). **La figure 9** est une photographie du point du prélèvement de l'échantillon le 18 mars 2024 à 13:59.



Figure 9 : Site du prélèvement au niveau de la source thermale Hammam K'sana

2. Analyses physico-chimiques

2.1. Appréciation de la qualité organoleptique

La couleur et l'aspect de cette eau ont été appréciés visuellement sur les flacons de l'échantillon, et l'odeur est vérifiée par odorat.

2.2. Mesure de température et potentiel d'hydrogène

La température et le pH de l'eau ont été mesurés in situ à l'aide d'un thermomètre et d'un pH-mètre de terrain.

2.3. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité est une propriété physique qui mesure la capacité de l'eau à conduire l'électricité (Wetzel, 2001). D'une solution dépend étroitement de la concentration d'ions dissous. Pour la mesurer, un conductimètre est utilisé dans les laboratoires environnementaux. Ce dispositif comprend une électrode immergée dans l'échantillon, et la conductivité est

directement affichée en microsiemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$) à une température ambiante de 28°C , (Annexe 4).

2.4. Mesure de la résistivité

La résistivité est l'inverse de la conductivité électrique, elle renseigne sur la minéralisation de l'eau (la concentration en électrolyte dissous). Cette résistivité dépend de la composition chimique de l'eau, de sa température et de sa pression. En général, elle contient des minéraux dissous, tels que le sodium, le potassium, le magnésium et le calcium qui peuvent augmenter sa conductivité électrique. Pour mesurer la résistivité en utilise un appareil multi usage qui contient une sonde de mesure, elle est généralement exprimée en ohm-mètre.

2.5. Mesure de la turbidité

La turbidité est une caractéristique optique de l'eau, à savoir sa capacité à diffuser ou à absorber la lumière incidente. La turbidité est un des facteurs de la couleur de l'eau, elle est due à la présence dans l'eau de particules en suspension (argile, limon, microorganismes).

L'appareil utilisé est le turbidimètre appelé aussi néphélométrie. Les résultats sont exprimés en unité de turbidité néphélométrie (NTU).

2.6. Mesure salinité

La salinité désigne la concentration des sels minéraux dissous dans l'eau, le résultat est directement donné par le même appareil de conductivité mètre à température de $27,4^\circ\text{C}$ en g/L.

2.7. Dosage des anions et cations

2.7.1. Dosage des cations

Les cations (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+) sont mesurés par Spectromètre d'émission atomique par plasma induit ICP –OES : c'est un instrument qui permet l'analyse élémentaire de solutions, constitué d'un système d'excitation : un plasma d'argon ionisé généré et entretenu par le champ magnétique induit par une bobine et d'un spectromètre qui permet l'analyse de la lumière émise par les éléments contenus dans l'échantillon à analyser. La solution à analyser est amenée par une pompe péristaltique dans un nébuliseur traversé par un courant d'argon où elle est transformée en aérosol (mélange de gaz, de gouttelettes et de particules). Cet aérosol est filtré dans une chambre : les plus grosses gouttes sont éliminées dans un drain et ne servent pas à l'analyse, les plus petites gouttes sont entraînées vers la torche et introduites dans le plasma d'argon

La lumière ainsi émise est dispersée et recueillie sur un détecteur puis transforme en signal électrique puis cet dernière est convertie en concentration des éléments recherchés par comparaison avec les signaux obtenus sur des solutions étalons contenant des quantités connues de ces éléments.

2.7.2. Dosage des anions

Les anions (HCO_3^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-}) sont mesurés par méthode colorimétrique par kit LCK : c'est un système de tests en cuve qui permet le contrôle des limites autorisées, comme alternative aux méthodes de référence laborieuses. Chaque test en cuve contient les données d'étalonnage du lot correspondant et une Etiquette de code à barres pour reconnaissance automatique dans le spectrophotomètre DR1900 (**Annexe 3**).

2.8. Dosage de phénol, cyanure, azote

Sont directement donné par même appareil (LCK) en mg/L.

2.9. Dosage des chlorures par la méthode de Mohr

Le chlore présent dans l'échantillon sous forme d'acide hypochloreux et/ou d'ion hypochlorite réagit immédiatement avec le DPD (N, N-diethyl-p-phenylène-diamine), en même temps que le chlore présent dans l'échantillon pour former une coloration rouge proportionnelle à la concentration du chlore.

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent (AgNO_3) en présence de chromate de potassium, la fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent on utilise un Tétra-Line.

2.10. Demande biochimique en oxygène

La demande biochimique en oxygène (DBO) exprime la quantité d'oxygène nécessaire à la destruction ou à la dégradation des matières organiques d'une eau par les micro-organismes du milieu. Il s'agit d'un paramètre mesurant d'une oxydation biologique des matières organiques qui fait intervenir des réactions enzymatiques complexes intra ou extracellulaires. Il s'agit donc d'une consommation partielle de dioxygène par voie biologique. Ce paramètre est mesuré par la méthode de respirometrique (**Annexe 4**).

2.11. Demande chimique en oxygène

La demande chimique en oxygène (DCO) qui correspond à la quantité d'oxygène) qui a été consommée par voie chimique pour oxyder l'ensemble des matières oxydables présentes dans l'eau. La DCO est particulièrement indiquée pour mesurer la pollution d'un effluent industriel est mesuré par appareil LCK (**Annexe 3**).

2.12. Recherche des métaux lourds

Les analyses chimiques des métaux lourds (Fe, Mn, Zn, Cu, F, A, Ni, Pb, Cr, Se, Cd) sont mesurées par ICP-MS 7700 (Inductively coupled plasma mass spectrometry) est un type de spectrométrie de masse capable de détecter les métaux à des concentrations très faibles. Il est basé sur la séparation des éléments sous forme ionisée en fonction de leur rapport masse sur charge noté m/z . La quantification est réalisée grâce à un détecteur (**Annexe 4**).

3. Analyse microbiologique

Cette partie consiste en :

- Etude microbiologique de la qualité sanitaire des eaux thermale de hammam K'sana.
- Réalisation des isolements (bactéries) à partir des eaux thermales de Hammam K'sana.
- Caractérisations des isolats.

3.1. Étude de la qualité sanitaire des eaux

L'étude microbiologique d'une eau thermale est basée sur la recherche de la flore microbienne saprophyte, pathogène et de contamination fécale. L'importance de la recherche de ces microorganismes réside dans leur pathogénicité au niveau cutané et des muqueuses. Les germes recherchés et les milieux utilisés sont cités dans **le tableau VI**.

Tableau VI : Germes recherchés et les milieux utilisés (Hunter, 1993 ; Rodier et al., 2005)

Germes recherchés	Technique
<p>Flore Mésophile Aérobie Totale (FAMT)</p>	<p>-Préparer des dilutions décimales 10^{-1} jusqu'à 10^{-3} à partir de la solution mère. Chaque dilution seraensemencée à raison de 1 mL dans 15 mL de PCA, puis homogénéiser et laisser solidifier. Pui incuber à 30°C pendant 72 heures (méthode en milieu solide). Lecture : après incubation Les colonies se présentent sous forme lenticulaire, avec une couleur blanche.</p>
<p>Coliformes Totaux(CT) et Fécaux (CF)</p>	<p>-Réaliser des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-3} à partir de la solution mère. Chaque dilution sera ensuiteensemencée dans 3 tubes de BCPL par méthode du Nombre le Plus Probable (NPP), avec 1mL par tube. Puis incuber à 37°C pendant 24 heures pour les coliformes totaux et à 44 °C pour les coliformes fécaux <i>E. coli</i>.</p> <p>Lecture : Les tubes positifs présentent un changement de couleur jaune accompagné d'un dégagement de gaz dans la cloche de Durham. Le volume de gaz produit doit être supérieur à 1/10 du volume total de la cloche.</p> <p>-Chaque tube positif sera ensuiteensemencé sur milieu Schubert et incubé à 44 °C pour détecter <i>E. coli</i>, un coliforme thermo tolérant producteur d'indoles.</p> <p>-Les tubes positifs permettent de déterminer le nombre caractéristique qui sera consulté dans les tables de Mac Grady, puis converti en UFC/mL.</p>
<p>Streptocoques Fécaux</p>	<p>-Préparer des dilutions décimales jusqu'à 10^{-3} à partir de la solution mère. Pour chaque dilution, effectuer troisensemencements de 1 mL dans 10 mL de milieu Rothe, avec trois tubes par dilution. Puis incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures (méthode en milieu liquide).</p> <p>Lecture 1 : Les tubes positifs présentant un trouble seront repiqués en ajoutant une goutte dans 10 mL de milieu Eva Litsky (test présomptif).</p> <p>Lecture 2 : Les tubes montrant à la fois un trouble et un dépôt en pastille violette seront considérés comme positifs. Ils seront utilisés pour déterminer le nombre caractéristique, à lire dans les tables de Mac Grady et converti ensuite en UFC/mL.</p>
<p>Staphylococcus aureus</p>	<p>-Procéder à un enrichissement dans 10 mL de Bouillon Giolitti Cantoni (GC) en utilisant 10 mL de solution mère (SM). Puis incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les tubes montrant un noircissement seront sélectionnés pour un isolement sur milieu Chapman, suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. Lecture : Les colonies de <i>S. aureus</i> se présentent sous forme de zones jaune doré entourées d'une zone d'acidification.</p>

Tableau VI : Germes recherchés et les milieux utilisés (Hunter, 1993 ; Rodier et al., 2005)
suite

Germes recherchés	Technique
<i>Clostridium Sufito réducteurs</i>	<p>-Chauffer quatre tubes contenant 5 mL d'eau (à analyser) à 80°C pendant 10 minutes, puis les refroidir sous un jet d'eau froide. Ils sont ensuite ensemencés avec de la gélose viande foie préalablement enrichie en alun de fer et sulfite de sodium et en ajoute huile de vasline sur la surface. Incuber à 37°C pendant 24 heures (lecture à partir de 16 heures).</p> <p>Lecture : Compter le nombre de colonies noires par tranche de 20 mL d'eau.</p>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<p>-Inoculer 100 µL sur gélose Cétrimide, puis étaler uniformément avec un râteau.</p> <p>-L'incubation se fait à 37°C pendant 48h.</p> <p>Lecture : se milieu permet la croissance de <i>pseudomonas aeruginosa</i>, <i>P. putida</i>, <i>P. maltophilia</i>. Identifier les colonies bleu-vert ou verdâtres (colonies fluorescentes). Confirmer sur les milieux King A et King B.</p>
<i>Salmonella</i>	<p>-Ensemencer 10 mL de bouillon SFB selenite F Broth), puis en ajoute 10 mL de l'échantillon à la fin en ajoute aditifs (sulfite de sodium et alun de fer).</p> <p>-Incubation pendant 24 h à 37°C.</p> <p>Lecture : Tube, un dépôt rouge brique. Faire un ensemencement sur Hektoen.</p>

3.2. Isolement et purification

a. L'isolement : l'isolement a été réalisé sur différents milieux gélosés : gélose Tryptone Soja Agar (TSA) et gélose nutritive (GN) le pH de ces milieux est 7. À partir de la solution mère (SM) on a réalisé des dilutions décimales (10^{-1} jusqu'à 10^{-4}). 1mL sont prélevés de chaque dilution et étalés à la surface du milieu gélosé à l'aide d'un étaloire. Les boîtes de pétrie sont incubées à 37°C jusqu'à apparition des colonies bactériennes. Les différents milieux gélosés utilisés et leurs compositions sont résumés dans le **tableau VII**.

Tableau VII : Milieux utilisés pour les isolements

Milieux	Composition (g/L)
Gélose nutritive	Tryptone (5), extrait de levure (2,5), glucose (1), agar agar (15)
Gélose Tryptone Soja Agar (TSA)	TSA (40,5)

- a. La Purification :** après étalement des différentes dilutions sur milieu TSA solide ou GN solide, les boîtes sont incubées à 30°C pendant 3 à 4 jours et suivies quotidiennement afin de repiquer les colonies d'intérêt qui apparaissent sur la boîte. La purification des souches est réalisée par plusieurs repiquages successifs. Le repiquage se poursuit jusqu'à l'obtention d'une culture homogène ou toutes les colonies sont identiques entre elles et identiques au type de bactéries initialement ciblées.

3.3. Caractérisation des bactéries thermophiles

Après l'isolement et la purification des colonies obtenues, une étude morphologique, physiologique et biochimique a été réalisée pour l'ensemble des souches isolées.

3.3.1. Étude morphologique

Elle consiste à faire des observations macroscopiques et microscopiques.

3.3.1.1. Observation macroscopique

L'étude macroscopique des colonies permet la description de la forme, la taille, la couleur, l'opacité, l'aspect de surface et le contour des colonies.

3.3.1.2. Observation microscopique

➤ Observation à l'état frais

Cette observation permet la détermination de la forme des cellules, leur mode d'arrangement et leur mobilité au grossissement ($\times 50$).

➤ Observation à l'état fixé (coloration de Gram)

C'est une coloration différentielle ou double coloration qui permet de diviser les bactéries en deux grands groupes (Gram positif et Gram négatif), selon leur affinité pour les colorants liés à la structure générale de leur paroi. La méthode utilisée est citée en **annexe 5**.

3.3.2. Étude des caractères physiologiques

Pour étudier l'effet des températures, pH et de la concentration en NaCl sur la croissance, il est nécessaire de faire varier un des trois paramètres et maintenir les deux autres constants.

3.3.2.1 Influence du pH

L'influence du pH du milieu sur la croissance des souches bactériennes est déterminée en l'ajustant à différentes valeurs, à savoir : 5, 9. Puis inoculer et incuber les échantillons à une température de 37°C

3.3.2.2. Influence de la température

La température est un paramètre important pour une croissance optimale, chaque microorganisme préfère des températures adéquates. L'influence de la température sur la croissance est testée en incubant les souches en milieux solides (gélose nutritive sur boîtes de Pétri) à différentes températures : 30,45 et 60 °C pendant 48 h.

3.3.2.3. Influence de la salinité

L'halotolérance a été testée en étalant chaque culture sur des milieux liquides ou solides classiques auxquels on rajoute des concentrations différentes de NaCl : 1, 3, 5 et 7%. Le développement est vérifié après incubation aux températures optimales du microorganisme.

4. Étude des caractères biochimiques

Pour la détermination des caractères biochimiques des différentes souches isolées, nous avons utilisé des tests classiques suivant représenté dans **le tableau VIII** :

Tableau VIII : Tests biochimiques effectués pour l'identification des souches isolées (*In Bouacem, 2021*)

Tests	Principes	Techniques	Lectures
Etude du métabolisme énergétique			
Catalase	La catalase empêche l'accumulation de peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) qui est issue de la voie respiratoire oxydative des bactéries. La catalase est une enzyme qui a la propriété de décomposer le H ₂ O ₂ peroxyde d'hydrogène	La méthode consiste à déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée puis, à l'aide d'une pipette boutonnée, à étaler l'inoculum bactérien.	Apparition de bulles d'air et dégagement gazeux: Présence de l'enzyme catalase.
Cytochrome Oxydase	Ce test permet de mettre en évidence la présence du cytochrome oxydase, une enzyme catalysant une réaction d'oxydo-réduction. Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif N diméthyle paraphenylene diamine en dérivé violet.	Déposer sur un carré d'oxydase la colonie à tester et laisser agir. Après quelques secondes observer l'apparition ou pas de la couleur violette.	Une coloration violette traduit la présence de l'oxydase.
Nitrate Réductase	La Nitrate Réductase est capable de catalyser la réaction de réduction de Nitrates (NO ₃ ⁻) en Nitrites (NO ₂ ⁻) et chez certaines bactéries en azote (N ₂).	Réaliser une culture dans un bouillon nitrate. Incuber à 60°C pendant 24-48 h. Ajouter au moment de la lecture quelques gouttes des réactifs de Griess NR I (acide sulfanilique) et NR II (α naphthylamine). En l'absence de nitrites, rechercher la disparition des nitrates par addition de zinc (épreuve de zobell).	Le virage immédiat de la couleur du jaune en rouge nous indique que la souche est NR ⁺ . Si le milieu reste inchangé (jaune), on ajoute alors de la poudre de Zinc. S'il devient rouge le test est négatif, inchangé donc la souche est NR ⁺ (stade N ₂).
Etude du métabolisme glucidique			
Type de métabolisme Oxydatif ou fermentaire	Les bactéries peuvent utiliser les glucides par deux voies métaboliques: Oxydative et fermentaire.	Ensemencer sur MEVAG deux tubes par piqûre centrale la colonie à tester, recouvrir l'un des tubes d'huile de vaseline pour créer l'anaérobiose puis Incuber à 60°C pendant 24à48h.	Métabolisme oxydatif : Acidification (virage au jaune) dans le tube sans la vaseline. Métabolisme fermentaire: Acidification rapide dans les deux tubes

Tableau VIII : Tests biochimiques effectués pour l'identification des souches isolées (*In Bouacem, 2021*) suite

Tests	Principes	Techniques	Lectures
Métabolisme glucidique (Test VP et RM)	L'étude des produits terminaux de la glycolyse consiste à faire une différenciation entre la fermentation butylène glycolique (test de Voges Proskauer) et la fermentation acides mixtes (test au Rouge de Méthyl).	Ensemencer sur le milieu Clarck et Lubs la souche bactérienne à étudier et incubé 24h à 48h à 60°C. Après incubation. Répartir ce tube en 2 autres : l'un servira à la recherche des acides mixtes et l'autre à la recherche de l'acétone. Ajouter respectivement dans chaque tube 2 gouttes de rouge méthyle RM et quelques gouttes des réactifs VPI (napht-1-ol en solution éthanol) et VPII (hydroxyde de Potassium)	Si le milieu vire vers le rouge, la souche est RM ⁺ . Si la réaction se traduit par un virage du milieu au rouge, la souche est VP ⁺ .
Dégradation des sucres production d'H₂S et de gaz sur TSI (Triple Sugar Iron)	Le milieu TSI permet l'étude de la fermentation de 3 sucres (glucose, lactose et saccharose), ainsi que la production d'H ₂ S et de gaz.	Ensemencer par piqûre centrale le culot et par stries la pente puis incubé à 60°C pendant 24 à 48h.	Pente vire au jaune : La souche est Lac ⁺ , Sac ⁺ . Culot vire au jaune : La souche est Glu ⁺ . Décollement de la gélose : La souche est Gaz ⁺ . Noircissement du milieu dans la zone joignant le culot à la pente: La souche H ₂ S ⁺ .
Mannitol-Mobilité	Le milieu Mannitol-Mobilité est utilisé pour rechercher la dégradation du mannitol et la mobilité d'une souche.	Ensemencer la souche à tester par piqûre centrale le milieu Mannitol-mobilité puis incubé 24-48h à 60°C.	Acidification (virage au jaune) : dégradation du mannitol. Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble
Etude du métabolisme protéique			
Production d'indole	Certaines bactéries ont la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane.	Ensemencer une culture dans une eau peptonée exempte d'indole puis incubé 60°C pendant 24h Après incubation ajouter quelques gouttes de Kovacs.	Une réaction positive se traduit par la formation d'un anneau rouge, la souche étudiée produit de l'indole.
Etude du métabolisme des acides organiques			
Citrate perméase	Seules les bactéries possédant le citrate perméase sont capables de se développer sur ce milieu. L'utilisation du citrate se traduit par une alcalinisation du milieu.	Ensemencer en surface longitudinales la pente du milieu à l'aide d'une pipette chargée de la souche à étudier puis incubé à 60°C pendant 2 à 3 jours.	Le virage de l'indicateur au bleu indique une alcalinisation du milieu donc la présence de l'enzyme: Bactérie citrate positif.

5. Criblage d'activités enzymatiques extracellulaires

5.1. Amylase

Pour mettre en évidence l'activité amylolytique, les souches bactériennes sont cultivées sur une gélose nutritive contenant 0,5% (m/v) d'amidon soluble. Les boîtes de cultures sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h, après incubation le milieu gélosé est traité avec une solution de lugol pendant 30 seconds suivis d'un rinçage à l'eau distillée. La présence d'une zone claire autour des colonies indique une activité amylolytique tandis qu'un résultat négatif se traduit par une couleur brune autour des cultures (Benkahoul et al., 2017).

5.2. Chitinase

Pour rechercher l'activité chitinolytique, nous ajoutons 0,2 % (m/v) de chitine colloïdale à la gélose nutritive. Après incubation, la présence de l'enzyme se révèle par des zones d'hydrolyse claires entourant les colonies.

5.3. Cellulase

Pour évaluer l'activité de la cellulase, on ajoute 0,5% (m/v) de carboxyméthyl cellulose à la gélose nutritive, après incubation, les boîtes de Petri sont submergées dans une solution de NaCl à 1 M. Les boîtes sont ensuite laissées 5 à 10 min à température ambiante. La production de cellulases est détectée par l'apparition de zones claires autour des colonies.

5.4. Xylanase

L'activité xylanolytique est recherchée sur la gélose nutritive additionnée de 0,5 % (m/v) de xylane. Après incubation, les boîtes de Petri sont inondées par une solution de rouge congo et incubées pendant 15 à 30 minutes. La solution de rouge congo est remplacée par une solution de NaCl à 1 M et les boîtes sont laissées pendant 5 à 10 minutes à température ambiante. La production de xylanase est appréciée par l'apparition de zones claires autour des colonies.

5.5. Pectinase

Pour mettre en évidence l'activité pectinolytique, les souches bactériennes sont cultivées sur une gélose nutritive contenant 0,2 % (m/v) de la pectine. Les boîtes de cultures sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h, après incubation le milieu gélosé est traité avec une solution de Lugol pendant 30 secondes suivis d'un rinçage à l'eau distillée. La présence d'une zone claire autour des colonies indique une dégradation de la pectine.

5.6. Protéase

Pour mettre en évidence l'activité protéolytique, les souches bactériennes sont cultivées sur une gélose nutritive contenant 100 mL (v/v) de lait sans matière grasse chauffée. Les boîtes de cultures sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48h, après incubation y'aura apparition d'une zone clair autour des colonies révéle l'activité protéolytique.

Résultats et discussions

I. Analyse physico-chimique de l'eau

1. Appréciation de la qualité organoleptique de l'eau

Au moment de prélèvement, l'eau de la source de H. K'Sana est de couleur transparente, présentant des matières en suspension avec une odeur caractéristique de sulfure, En particulier sous forme d'hydrogène sulfuré (H₂S), dégage une odeur d'œuf pourri (**Ohayon-Courtès, 1995**). S'accompagne d'un dégagement de gaz de manière continue et absence un signe de pollution apparente.

2. Résultats des paramètres physico-chimiques

Les résultats des paramètres physico-chimiques sont représentés dans le **tableau IX**.

Tableau IX : Résultats de l'analyse physico-chimique

Paramètres	T (°C)	pH	Turbidité (NTU)	Conductivité (µs /cm)	Résidus secs (mg/L)	Salinité (g/L)	Résistivité Ω.Cm	DBO(mg/L)	DCO(mg /L)
Eau Hammam K'sana	64	7,59	20,6	9047	300	5,1	0,00011	6,5	82,5

Il est essentiel de connaître la température de l'eau, car elle influence de manière significative la solubilité des sels et des gaz (**Ould Cheikh et al., 2012**). La source thermale étudiée présente une température de 64 C° en hiver, ce qui la classe parmi les sources hyperthermales.

Le pH influence de manière cruciale sur la croissance des microorganismes. Des valeurs inférieures à 5 ou supérieures à 8,5 affectent directement leur développement (**Belghyti et al., 2010**). Selon les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, le pH de cette eau est relativement neutre (pH = 7,59) et nous remarquons que la valeur de nos échantillons ne dépasse pas celles fixées par le journal officiel algérien (8,5) pour les eaux minérales.

Selon les résultats du **tableau IX**, la turbidité mesurée est de 20,6 NTU, indiquant une concentration élevée de matières en suspension dans cette eau. De plus, la conductivité enregistrée est de 9047 (µS/cm). D'après le résultat obtenu nous remarquons que les composantes de nos échantillons dépassent la norme algérienne qui indiquant une valeur limitée de 2800 (µS/cm) à 20°C.

La concentration des résidus secs dans l'eau renseigne sur sa minéralité (*in* **Bouacem, 2016**). Les résultats du **tableau IX** indiquent une concentration de 300 mg/L en résidus secs.

D'après l'analyse de notre eau, la salinité représente la quantité de sels dissous dans le liquide, avec une mesure de 5,1 mg/L.

D'après les résultats obtenus dans le **tableau IX**, on note une résistivité de 0,00011 Ω .Cm, par conséquent et en fonction du comportement électrique typique de l'eau, cette valeur peut être considérée comme faible.

3. Dosage des anions et des cations

D'après **Blowoux (1998)**, les eaux minérales naturelles sont des eaux météoriques qui ont acquis une minéralisation dont la nature et l'importance est en relation avec les structures géologiques traversées.

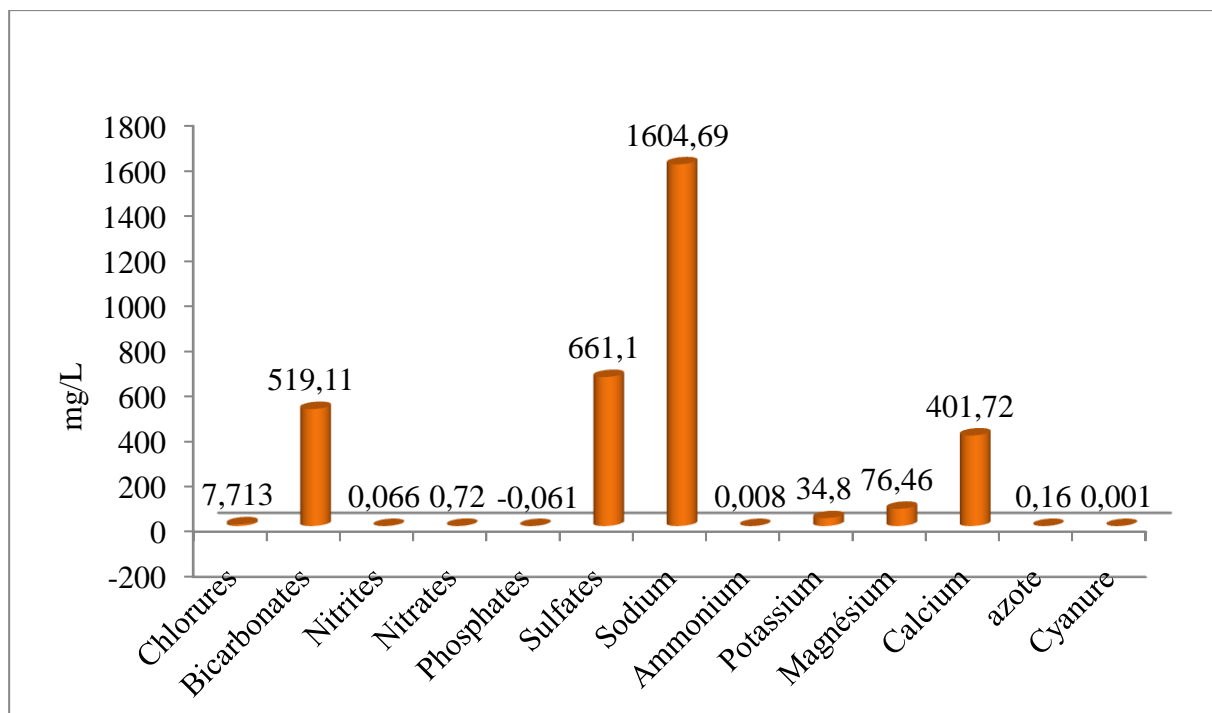


Figure 10 : Résultats de la composition ionique (cationique et anionique) de l'eau de Hammam K'sana

D'après l'histogramme ci-dessus, la présence et la teneur de ces minéraux influencent la croissance des germes microbiens et peuvent jouer un rôle important dans l'orientation thérapeutique de ces sources, les rendant adaptées à l'utilisation en thermalisme, d'après les travaux de **(Hani, 2006)**. En effet, les principaux éléments constituant la minéralisation de ces eaux sont les sulfates, les bicarbonates, le sodium, le calcium, le magnésium et le potassium.

Le sulfate constitue la forme la plus oxydée du soufre. Il joue un rôle essentiel dans le cycle biologique, favorisant ainsi le développement des bactéries sulfatoréductrices **(Cordonier, 1997)**. Les bicarbonates peuvent servir de source de carbone pour les autotrophes ou d'accepteurs finaux d'électrons pour les archées méthanogènes **(Sorensen et**

al., 2004). La présence de nitrate peut favoriser le développement des bactéries nitrato-réductrices ou dénitrifiantes in situ.

La composition ionique et la richesse de ces eaux en sulfates, sodium, potassium, calcium, bicarbonates et magnésium leur confèrent des bienfaits pour la régénération osseuse et le traitement des rhumatismes, des maladies métaboliques, urinaires et digestives. Elles ont également des effets apaisants et cicatrisants. Ces eaux sont utiles dans les soins spécialisés pour le traitement des affections respiratoires et gynécologiques (**Boughlali, 2003**).

Des études similaires menées sur la station Sidi Harazem sont arrivées à la conclusion que les eaux de cette dernière sont de bonne qualité physicochimique et sont riches en magnésium, en calcium et en bicarbonates et répondent aux normes marocaines d'eau potable (**Khayli et al., 2011 ; Salame et al., 2013**).

Les autres sels dissous (chlorure, ammoniac, phosphates, nitrites, cyanure et azote) présents en très faibles quantités dans l'eau, sont naturellement trouvés dans les échantillons analysés. Les valeurs calculées, inférieures aux limites fixées par l'OMS pour une eau minérale de boisson, suggèrent une absence de pollution due aux déversements agricoles.

Des études similaires menées au niveau des eaux de la fontaine de Aïn Allah et les eaux de la fontaine de Sidi Harazem au Maroc avec une très faible teneur en ce qui concerne les éléments nutritifs à base d'azote (nitrates, nitrites, ammoniums et azote total) et de phosphore (ortho-phosphates et phosphore total), ce qui témoigne de l'absence de toute source de pollution. De plus, les teneurs en ces éléments restent très inférieures aux valeurs maximales admissibles par les normes marocaines, françaises ou par l'OM.S. Sachant que ces stations sont situées dans une région agricole, les faibles teneurs en ces éléments justifient les origines très profondes de leurs eaux.

En conclusion, les eaux de Hamam K'Sana : Hyper-sodiques, sulfatées, bicarbonatées, calciques.

3. Recherche des métaux lourds

Les métaux lourds sont recherchés dans les eaux car ils représentent pour la plupart, un indice de pollution et de toxicité (Rodier et al., 2005). Les résultats du dosage des métaux lourds par ICP-MS 7700 (Inductively coupled plasma mass spectrometry) sont représentés dans l'histogramme suivant.

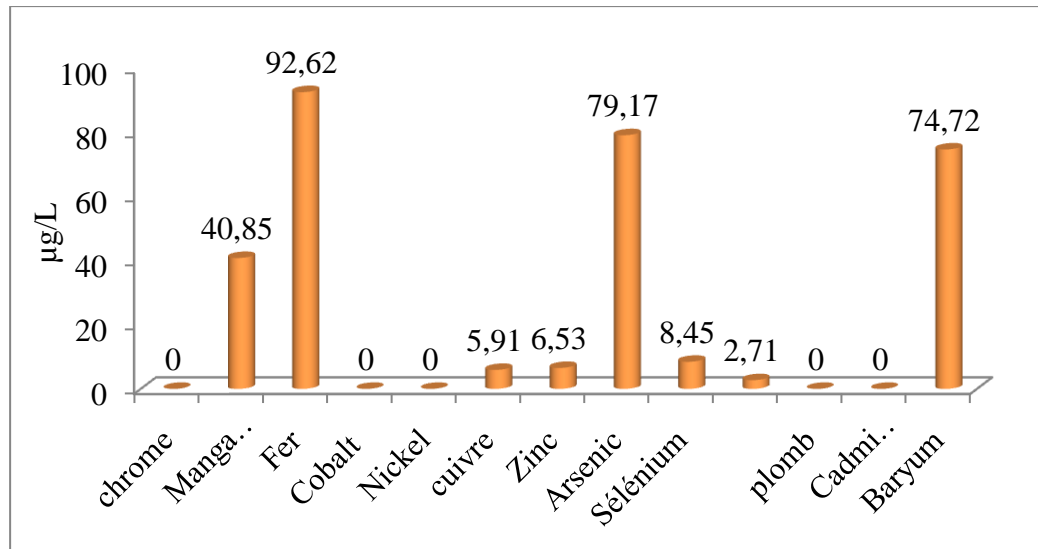


Figure 11 : Composition en métaux lourds d'eau étudiée

Les métaux lourds sont recherchés dans l'eau car ils représentent également un indice de pollution et de toxicité (Rodier et al., 2005). La figure ci-dessus regroupe les différents résultats obtenus.

L'eau thermale étudiée présente des concentrations élevées en certains éléments traces et métalliques : 92,62 µg/L pour le (Fe), 79,17 µg/L pour le (As), 40,85 µg/L pour le (Mn), 8,45 µg/L pour le (Se), 6,53 µg/L pour (Zn), 5,91 µg/L pour (Cu) et 2,71 µg/L pour (Mo). Par ailleurs, les eaux de Hammam k'sana sont exemptes de cadmium, nickel, cobalt, plomb et en chrome. D'après Lakhdar et al. (2006), les éléments métalliques lourds ne sont véhiculés que par des fluides sous des conditions de température et de pression très élevées. Les sources thermales du Nord de l'Algérie sont généralement liées à de grandes fractures affectant profondément les formations sédimentaires et parfois même le socle cristallin, ceci pouvant expliquer la richesse de cette eau en éléments métalliques (Ouali et al., 2018).

II. Résultats de la microbiologie des eaux

1. Résultats de l'analyse de la qualité sanitaire

Le **tableau X** regroupe les résultats des différents germes recherchés dans les eaux thermales de Hammam K'sana.

Tableau X : Résultats de l'analyse microbiologique des eaux de Hammam K'sana

Paramètres	Lectures et interprétations	Résultats
Flore mésophile aérobie totale (FAMT)	Après 5 jours, les trois dilutions montrent des résultats positifs avec une croissance observée sur toutes les trois boîtes, où le nombre de colonies est supérieur à 300.	Indénombrables
Coliformes totaux (CT) et fécaux (CF)	Après 24 heures, il n'y a pas eu de changement de couleur du milieu vers le jaune, indiquant aucune acidification, et la cloche ne présente aucun signe de formation de gaz. L'échantillon ne montre aucune contamination par les coliformes totaux et fécaux : il n'y a pas de présence d' <i>E. coli</i> dans notre échantillon.	Absence
<i>Streptocoques Fécaux</i>	Après 24 heures, absence de troubles dans le milieu. Absence de <i>Streptocoques</i> fécaux dans cette eau.	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Après 24 heures, d'incubation, aucun noircissement n'a été observé dans le bouillon Giolitti Cantoni (GC). Un isolement préventif sur milieu Chapman n'a révélé aucune colonie jaune doré, indiquant l'absence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans cette eau.	Absence
<i>Clostridium sulfito Réducteurs</i>	Un des quatre tubes montre des colonies noires, indiquant la présence de <i>Clostridium</i> sulfitoréducteur dans cette eau.	Présence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Après 24 à 72 heures, Aucune croissance n'a été observée sur la gélose au Cétrimide, et les tubes de BCPL étaient également négatifs.	Absence
<i>Salmonella</i>	Après 24 heures, d'incubation, aucun dépôt de rouge brique n'a été observé dans le Bouillon SFB, Un isolement préventif sur milieu Hektoen n'a révélé aucune colonie, indiquant l'absence de <i>Salmonella</i> dans cette eau.	Absence

L'analyse de la population bactérienne dans cette eau montre la présence d'une flore mésophile aérobie totale, en quantité non quantifiable. D'après une étude réalisée par H. Righa, H. Melouane et H. El-Hamia, cette flore est considérée comme autochtone de ces eaux. Par ailleurs, l'absence de germes fécaux indique qu'il n'y a pas de pollution urbaine. L'absence de coliformes totaux dans nos échantillons confirme également la bonne qualité sanitaire de cette eau.

Les *Clostridium* sulfite réducteurs sont présents dans nos échantillons et les mêmes résultats ont été trouvés dans les eaux Hammam Righa donc la nature de ces eaux est un biotope naturel pour ce groupe bactérien ainsi que pour toutes autres bactéries utilisant les composés soufrés.

D'après les résultats obtenus, on conclut que l'eau de Hammam K'sana répond aux caractéristiques particulières de qualité microbiologique et de sécurité exigées pour tout produit à usage thérapeutique.

2. Résultats de la caractérisation des souches

Une série d'études macroscopique, microscopique et biochimique a été réalisée pour l'ensemble des souches isolées en aérobiose (HKS1, HKS2, HKS3, HKS4, HKS5).

2.1. Etude morphologique

2.1.1 Examen macroscopique

La première étape de l'analyse consistait à observer les caractéristiques culturelles des colonies après l'incubation des souches à 37°C sur gélose TSA. Une culture présentant des colonies de tailles, formes et consistance variables a été obtenue, suivie de plusieurs purifications successives qui ont permis d'isoler 12 souches bactériennes présentant une diversité d'aspects macroscopiques et microscopiques. Le **tableau XI** résume les caractéristiques macroscopiques des souches bactériennes isolées.

Après incubation, la majorité des souches montrent des colonies opaques, rondes, de petite taille, à la surface lisse, avec des bords réguliers. Cependant, d'autres aspects macroscopiques ont été observés chez certaines souches, avec un contour irrégulier, ainsi qu'un diamètre grand ou moyen et une surface rugueuse et translucide. **Les figures** ci-dessous illustrent quelques exemples des caractéristiques culturelles observées.

2.1.2. Examen microscopique

Suite à une observation au microscope photonique, au grossissement ($\times 100$) à l'état fixé avec huile d'émersion et pour l'état frais au grossissement ($\times 50$) et nous avons constaté que les cellules des souches 4, 6, 10, 12 isolées sont des bâtonnets sporulés à Gram positif excepté les souches 3, 7, 14, 15 qui sont des Gram négatif. HKS2 et HKS15 sont cocci en diplocoque mobile à Gram positif et HKS15' et HKS7 sont colibacille isolé, la souche HKS1 est un bâtonnet regroupé et mobiles. **Les figures 13 et 14** et le **Tableau XII** illustrent l'aspect microscopique à l'état fixé et frais, respectivement, de quelques souches isolées.

La majorité des bactéries isolées des sources thermales en Algérie étaient des bacilles à Gram positif. Une étude similaire menée par **Larbi (2015)**, a identifié 59 souches bactériennes provenant de diverses sources thermales (Hammam Debagh à Guelma, Hammam Bouhnifia à Mascara, Hammam Bouhadjar à Aïn Témouchent, Hammam Rabi à Saïda, Hammam Righa à Aïn Defla). Parmi ces souches, 44 étaient des bacilles à Gram positif. L'étude a également révélé la présence de bacilles à Gram négatif et de cocci à Gram positif.

III. Etude des caractères biochimiques

Les résultats de la caractérisation biochimique sont représentés dans le **Tableau XIII**. Divers caractères ont été identifiés chez les souches en utilisant des milieux de culture spécifiques de la galerie biochimique.

1. Métabolisme énergétique

Les résultats obtenus indiquent que toutes les souches bactériennes étudiées possèdent au moins l'une des enzymes respiratoires recherchées (catalase, oxydase, nitrate réductase ; H_2O_2), c'est le cas de la plupart des bactéries aérobie et anaérobie facultatives thermophiles, (**Nazina et al., 2001**). Trois souches seulement sont négatives pour l'oxydase (HKS7, HKS12, HKS15'), tandis que la réduction du nitrate en nitrite est observée chez toutes les souches étudiées, à l'exception de la souche HKS5.

2. Métabolisme glucidique

➤ Type de métabolisme

Les résultats obtenus sur le milieu MEVAG montrent que toutes les souches bactériennes étudiées possèdent un métabolisme fermentaire (acidification rapide au jaune dans les deux tubes) à l'exception la souche HKS1 possèdent un métabolisme oxydative (virage au jaune dans le tube sans vaseline).

➤ Test VP et RM

Les résultats obtenus sur les deux milieux (VP) Voges Proskauer et (RM) Rouge de Méthyl (virage au rouge) montrent que les souches (HKS2, HKS3, HKS10, HKS12, HKS15') montrent une fermentation butylène glycolique et une fermentation acides mixtes. Alors que les souches (HKS5, HKS6, HKS7, HKS15) ne montrent que la fermentation acide mixte (virage au rouge dans les tubes RM). La souche HKS4 présente uniquement la fermentation butylène glycolique (virage au rouge dans les tubes VP), tandis que la souche HKS1 ne montre aucune des deux fermentations.

➤ Utilisation des sucres sur milieu TSI

Les résultats obtenus ont mis en évidence la capacité des souches à fermenter le glucose, le saccharose et le lactose. L'observation de la coloration jaune du milieu et du culot est observée chez toutes les souches 2, 10, 12, 14, 15, 15', ce qui indique la présence de l'enzyme oxydase, à l'exception de la souche 1 qui ne présente pas cette coloration, ainsi que la souche 5 dont le culot n'est pas viré au jaune, indiquant une absence de fermentation du glucose. Cependant, aucun décollement de la gélose n'a été observé et aucune coloration noire n'est apparue dans la zone adjacente au culot. On conclut donc que cette fermentation n'est pas accompagnée de production de CO₂ et de H₂S, à l'exception des souches 15 et 15', qui montrent une forte production de gaz.

➤ Mannitol-Mobilité

La fermentation du mannitol a été observée chez toutes les souches, indiquée par un virage de l'indicateur au jaune. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'acidification produite par les bactéries aéro-anaérobie facultatives à l'exception les souches 1 et 15. En ce qui concerne la mobilité, les souches ont poussés sur tout le long de la pique centrale, elles sont alors toutes mobiles. En fait, ce résultat est une confirmation de l'observation de la mobilité des bactéries à l'état microscopique.

➤ Test ONPG

Les résultats obtenus nous ont démontré que les souches (HKS2, HKS4, HKS10, HKS15') possèdent la β -galactosidase (enzyme du métabolisme du lactose) alors que les autres en sont dépourvues.

3. Etude du métabolisme protéique

➤ Production d'indole

Les résultats obtenus montrent que toutes les souches bactériennes étudiées sont tous indoles négatifs, donc les bactéries isolées n'ont pas la particularité de produire de l'indole à partir du tryptophane. Il s'agit d'un caractère fréquent chez les bactéries thermophiles (Nazina et *al.*, 2001).

4. Métabolismes des acides organiques

➤ Citrate perméase

Sur les 12 souches testées, sept seulement (HKS1, HKS2, HKS3, HKS5, HKS10, HKS15, HKS15'), ont présenté un citrate perméase. Donc le citrate est utilisé par la souche comme seule et unique source de carbone et témoigne de la présence de l'enzyme.

5. Métabolisme respiratoire

Les résultats de la culture sur le milieu VF ont révélé que tous les isolats ont poussé tout le long du milieu et à sa surface, à l'exception de la souche HKS1. Ces bactéries sont des aéro-anaérobies facultatives.

IV. Caractérisation physiologique des souches bactériennes

Les souches bactériennes sont capables de se multiplier dans des milieux de culture artificiels, qu'ils soient solides ou liquides, à condition que leurs besoins nutritionnels soient satisfaits. Leur croissance dépend de conditions physico-chimiques spécifiques qui sont proches de celles de leur écosystème naturel, notamment la température, le pH et la salinité. Les résultats de la caractérisation physiologique des différentes souches sont regroupés dans le **Tableau XIV** présenté ci-dessous.

1. Influence du pH sur la croissance

Toutes les souches se développent à un pH acide (pH = 5) excepté les cinq souches HKS4, HKS5, HKS6, HKS7 et HKS10. À un pH alcalin (pH = 9), toutes les souches sont capables de croître excepté HKS4, HKS5, HKS6, HKS7 et HKS10, (**Figure 15**). Notre eau constitue un réservoir de bactéries acidophiles ou alcalinophiles potentiellement utilisables en biotechnologie. De plus, la très bonne croissance observée chez la majorité des souches à différentes valeurs de pH suggère que ces bactéries ont développé des mécanismes d'adaptation à ces conditions environnementales variées.

2. Influence de la température sur la croissance

Les résultats de l'influence de la température sur la croissance des souches isolées sont rassemblés dans le **Tableau XIV**. Toutes les souches isolées présentent une croissance optimale à 30°C et 45°C. A 60 °C toutes les souches ont été poussées excepté les cinq souches HKS2, HKS4, HKS5, HKS6, HKS7, HKS14, HKS15 et HKS15'. Les résultats détaillés sont présentés dans La **Figure 16**.

3. Influence de la salinité sur la croissance

Toutes les souches se développent à 1% de NaCl. À 3 et 7%, toutes les souches peuvent se croître à l'exception de la souche HKS10. À 5% de NaCl, toutes les souches peuvent se développer à l'exception les souches HKS7, HS10 (**Figure 17**). Nos résultats concordent avec ceux de **Ben salem et al., (2012)**. D'après la littérature scientifique, il existe une grande diversité des microorganismes dans les sources hydrothermales terrestres.

Cette étude représente une première tentative d'isolement et de caractérisation de bactéries thermophiles produisant des enzymes capables de fonctionner dans des conditions physico-chimiques extrêmes.

Pour les résultats du **Tableau XIV**, on peut dire que toutes les souches poussent à 30 et 45 °C, par contre pour 60°C, seulement 5 souches (HKS1, HKS3, HKS5, HKS10 et HKS12) ont poussé. Toutes les souches se développent pour une salinité de 1%, mais seulement pour 3%, 5% et 7%, il n'y a pas de croissance pour 2 souches (HKS7 et HKS10). Selon le pH, il est possible de constater que dans un environnement acide ou alcalin, presque les mêmes souches se développent. En conséquence, les bactéries du Hammam K'sana à Bouira sont capables de croître et de résister dans différentes conditions environnementales.

Par-ailleurs, selon la liste des principales sources thermales algériennes, leur situation et la température de leurs eaux, on trouve que ces sources ont différentes températures pour que les bactéries puissent se développer comme Hammam Righa à 64°C, Hammam Essalihine à 45°C et Hammam Timoudi à 30°C (**Dib, 1985 ; Lahlou et al., 1998 ; Bahri et al., 2011**).

En Islande nous avons l'espèce *Rhodothermus marinus* qui est thermophile et halophile, elle est issue des sources chaudes sous-marines ; la température de croissance est limitée (54-77 °C) avec un maximum de 65 °C, ce qui témoigne de son adaptation aux conditions particulières près des ouvertures de sources chaudes. Son adaptation à des concentrations élevées de sel (optimale à 2 % de NaCl) met en évidence ses caractéristiques physiologiques spécifiques (**Alfredsson et al., 1988**).

En outre, on peut trouver dans la source thermale en Tunisie, la croissance se produit à 20–50 °C (optimum, 37 °C) et à un pH de 5,5 à 7,8 (optimum, pH 7,0) et des concentrations de NaCl comprises entre 0,5 et 8,5 % (optimum 2,5 %) (**Fadhlaoui et al., 2016**).

Elles contribuent à la variété de la vie microbienne dans des conditions extrêmes. Cette adaptation met en évidence l'importance d'explorer différents milieux pour découvrir des nouvelles espèces microbiennes et élargir notre compréhension de la diversité microbienne.

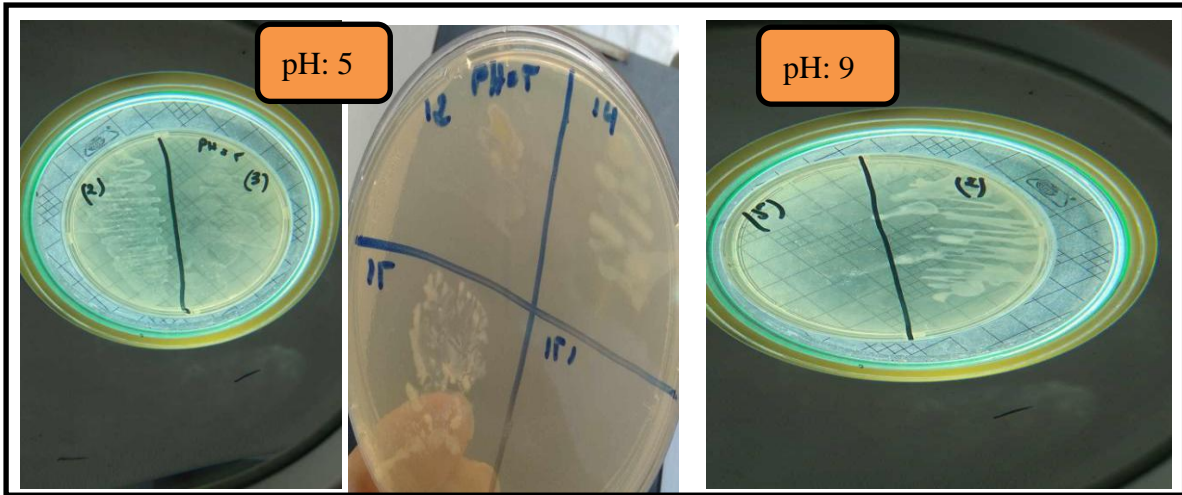


Figure 15 : Résultats de la culture des souches à différents pH

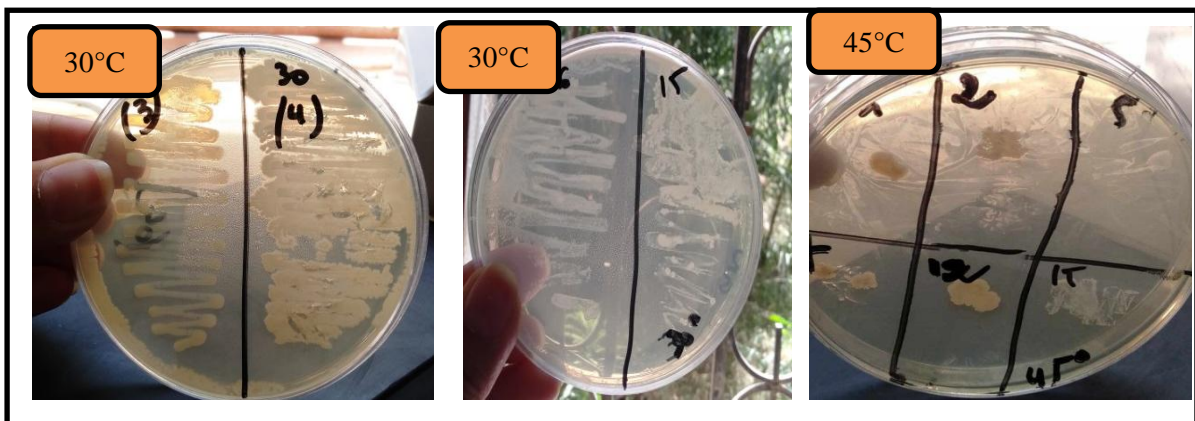


Figure 16 : Résultats de la culture des souches à différentes températures

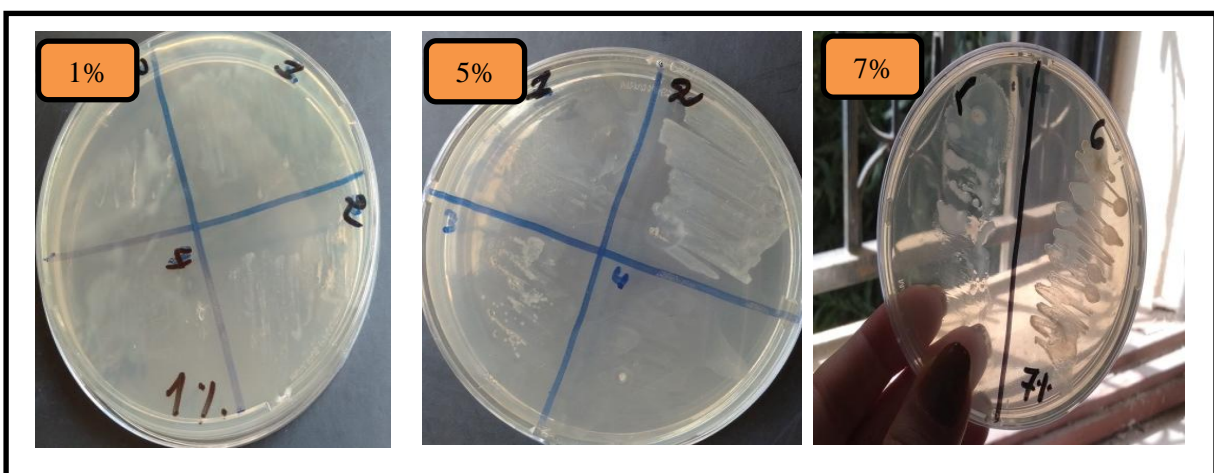


Figure 17 : Résultats de la culture des souches à différentes concentrations de Na Cl

IV. Mise en évidence de l'activité enzymatique

La découverte des nouveaux catalyseurs enzymatiques offre des perspectives d'applications et d'exploitations en biotechnologie. L'intérêt croissant pour les microorganismes vivant dans des environnements extrêmes, notamment les thermophiles, a révélé une diversité d'enzymes uniques aux propriétés exceptionnelles.

Les douze souches isolées dans notre travail ont été étudié pour déterminer leur capacité à produire des enzymes hydrolytiques extracellulaires, notamment l'amylase, la chitinase, la cellulase, la protéase, la xylanase et la pectinase. Les résultats révèlent que seulement 7 souches produisent de l'amylase. À l'inverse, les souches HKS1, HKS2, HKS5, HKS14 et HKS6 n'ont montré aucune activité amylolytique, comme l'indiquent le **tableau XV** et la **figure 18**.

La chitinase n'a été détectée que chez les souches HKS1 et HKS4. L'activité cellulolytique a été observée chez les souches HKS3, HKS4, HKS7, HKS10 et HKS14. En ce qui concerne la xylanase, elle n'est présente que chez six souches : HKS1, HKS3, HKS4, HKS10, HKS12 et HKS15. Quatre souches sécrètent la protéase : HKS1, HKS7, HKS10 et HKS15. Enfin, la pectinase est produite par deux souches : HKS1 et HKS3.

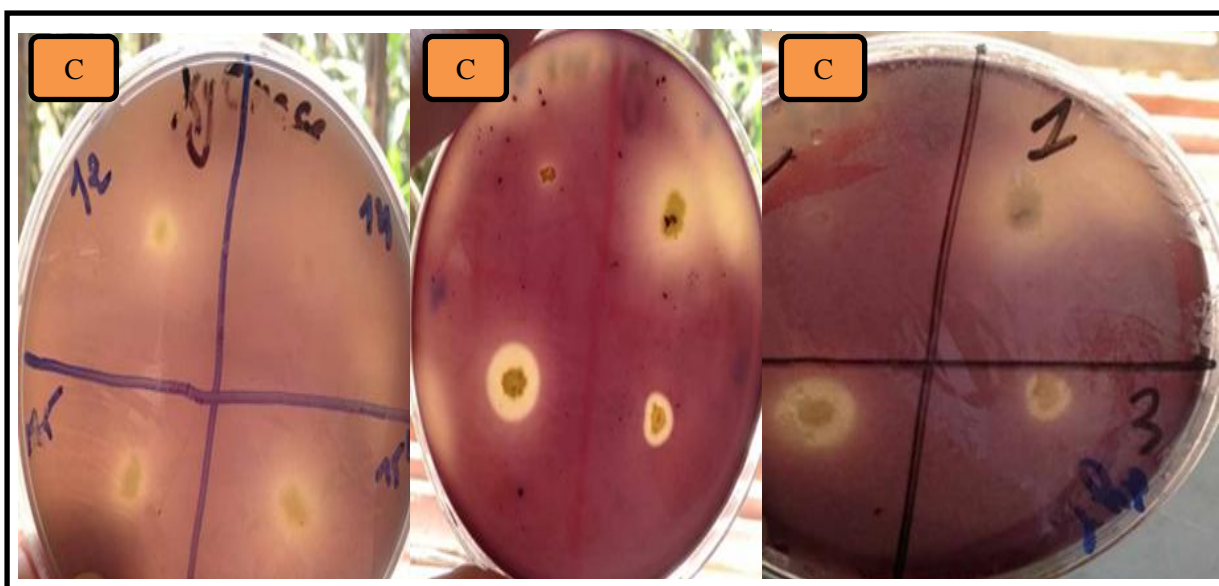
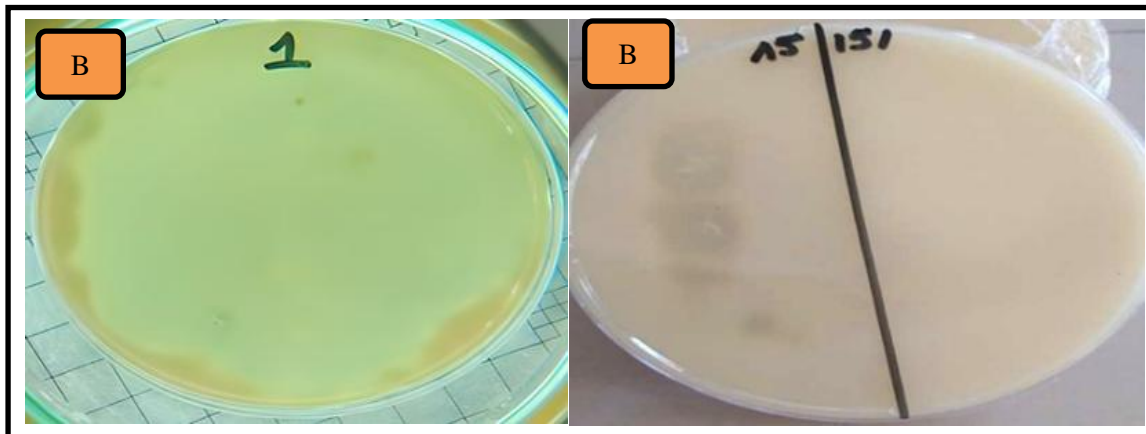
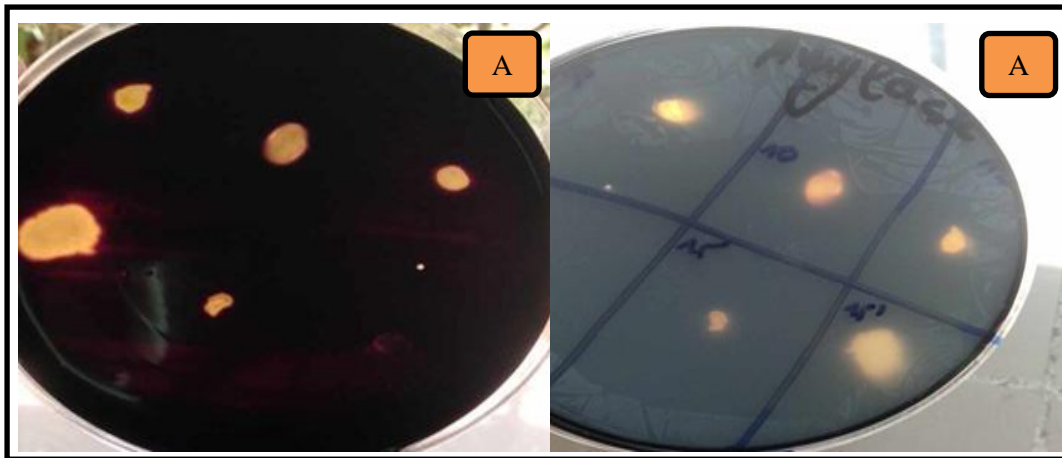
Les résultats de notre recherche sur les activités enzymatiques mentionnées dans le **tableau XV** indiquent que : Les douze souches isolées synthétisent principalement l'amylase. La

protéase et la xylanase sont produites par cinq souches en deuxième position. La cellulase est quant à elle produite par quatre souches. En revanche, la production de la pectinase et de la chitinase est très limitée, étant produite uniquement par deux souches.

Les extrémozymes sont des biocatalyseurs isolés à partir des microorganismes qui ont des caractéristiques remarquables en termes de thermostabilité, de tolérance et d'adaptation aux conditions de température extrêmes. De nouvelles possibilités s'ouvrent à la biocatalyse et aux biotransformations. Au cours des dernières années, des études ont été réalisées sur les protéines thermophiles, telles que les amylases, les protéases, les cellulases, les chitinases, les xylanases et les pectinases. Ces protéines présentent un potentiel considérable d'applications en biotechnologie, notamment dans les domaines de l'agriculture, de la chimie, de la biomédicalisation et de la biotechnologie. Les dernières années, l'intérêt pour l'étude des extrémozymes et de leurs principales applications a augmenté (**Shi, 2023**).

Aujourd'hui, les enzymes commercialisées proviennent d'organismes mésophiles. Toutefois, les enzymes provenant d'environnements extrêmes présentent des caractéristiques catalytiques spécifiques et pourraient présenter un intérêt majeur, notamment dans les secteurs de la biotechnologie (**Giordano, 2020**).

Exemple de quelques souches :



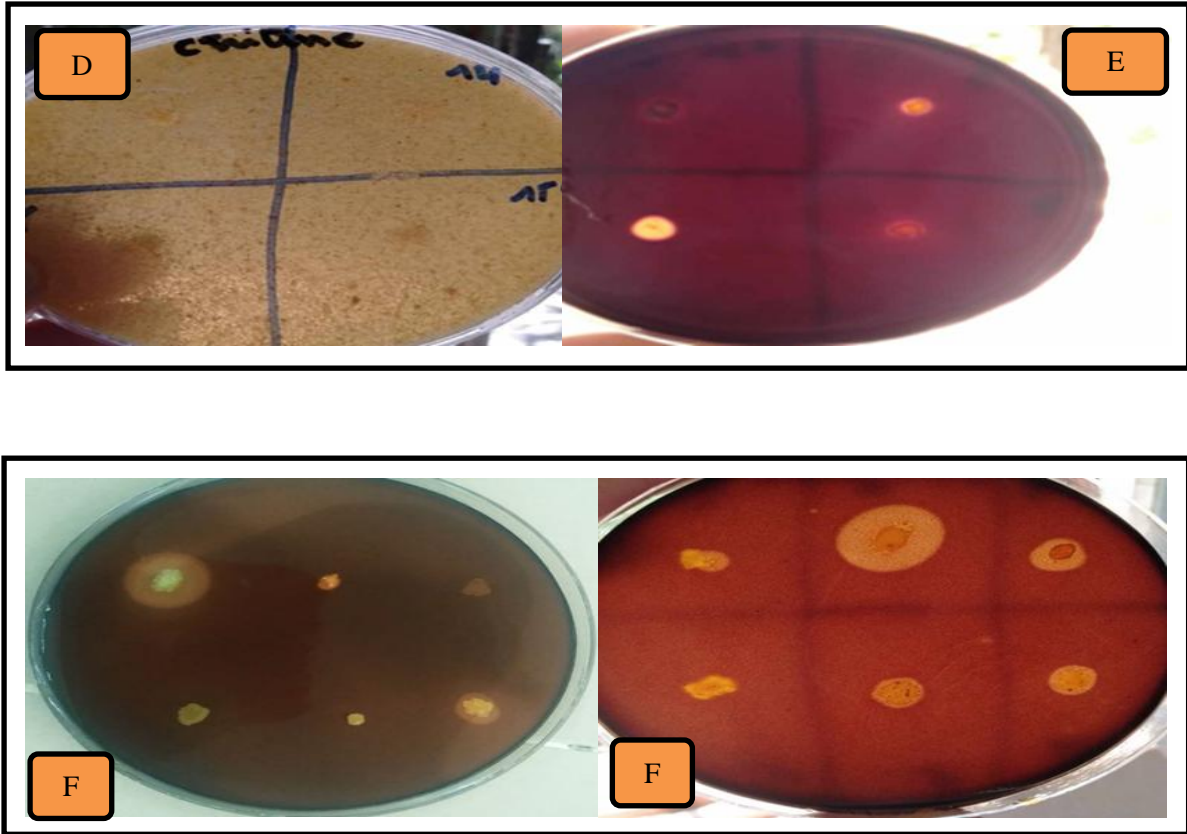


Figure 18 : Mise en évidence de l'activité enzymatique chez les souches isolées (A) amylase ; (B) protéase ; (C) xylanase ; (D) chitinase ; (E) pectinase ; (F) cellulase.

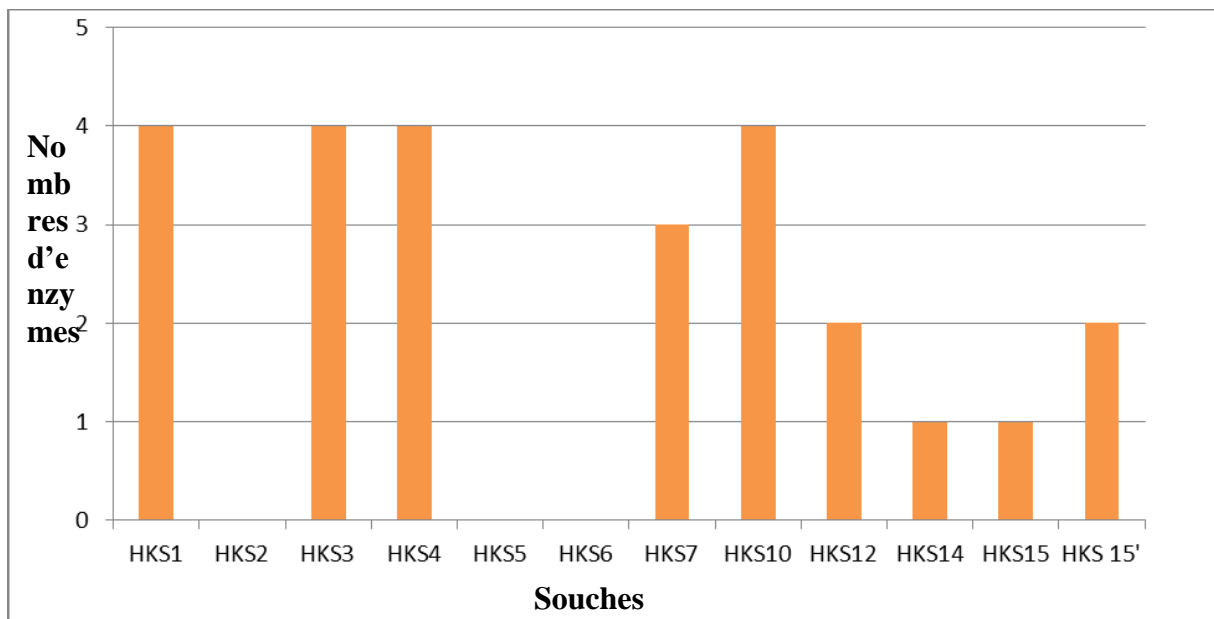


Figure 19 : Étude quantitative de la capacité des souches isolées dans la production d'enzymes.

Par cette représentation graphique, nous pouvons déduire que les souches HKS2, HKS5 et HKS6 ne possèdent aucune activité enzymatique, par contre HKS1, HKS3, HKS4 et HKS10 possèdent une activité enzymatique, donc ces souches sécrètent quatre enzymes. HKS1 elle produit les enzymes suivants (péctinase, protéase, xylanase et chitinase). La souche HKS3 elle produit (amylase, cellulase, péctinase et xylanase). Pour la souche HKS4 elle sécrète (amylase, cellulase, protéase, xylanase). Pour la souche HKS10 elle sécrète (amylase, cellulase, protéase, xylanase).

Pour la souche HKS7, elle sécrète trois enzymes (amylase, cellulase et protéase). Concernant la souche HKS10, elle sécrète deux enzymes seulement (amylase et xylanase). La souche HKS15', elle sécrète deux enzymes (amylase et xylanase).

Les souches HKS14 et HKS15 produisent une seule enzyme. Pour la souche HKS14 elle sécrète que de la cellulase et la souche HKS15 sécrète l'amylase.

Cette diversité d'enzymes retrouvée chez les souches isolées au cours de cette étude nous donne un aperçu sur la pauvreté de leur milieu naturel, ce qui a potentiellement poussé ces microorganismes à s'adapter et à utiliser d'autres sources de carbones tels que des matières organiques plus complexes comme source d'énergie alternative.

Conclusion et perspectives

L'étude de la diversité bactérienne thermophile dans une source thermale offre un aperçu fascinant de l'adaptation de la vie aux conditions extrêmes. Les bactéries thermophiles sont capables de prospérer dans des températures élevées, ce qui leur confère des caractéristiques uniques et des mécanismes de survie adaptés à leur environnement.

L'isolement et l'identification des bactéries thermophiles productrices des thermostzymes constituent l'objectif de cette étude. Ces bactéries ont été isolées à partir des échantillons d'eau prélevés de source Hammam K'sana dans la région de Bouira. Notre choix s'est porté sur la source thermale Hammam dans la wilaya de Bouira. Le choix de ce site d'étude n'est pas inopiné car il est considéré comme un écosystème pas encore étudié.

L'analyse physico-chimique de l'eau thermale provenant de la source Hammam k'sana à une température de 64°C et une composition minérale riche en sodium, bicarbonates, calcium et sulfates.

Les résultats de l'évaluation de la qualité sanitaire de l'eau thermale étudiée indiquent l'absence de germes fécaux recherchés (Coliformes, Streptocoques fécaux) et pathogène (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) et présence de *Clostridium* sulfite réducteur lors de cette évaluation. Cependant, afin d'obtenir des résultats fiables, il serait préférable d'effectuer au moins deux contrôles par semestre afin de s'assurer de la bonne qualité sanitaire.

À travers notre étude, nous avons isolé 12 souches dont 11 sont aéro-anaérobies facultatives et une aérobie stricte. Ces souches sont thermophiles plus ou moins élevées, halotolérants, variable et a pH optimale alcalin et/ ou acide dépendant des souches.

Les isolats obtenus représentent un large éventail d'enzymes extracellulaires et parmi ces dernières on note : les amylases, les cellulases, les chitinases, la protéase, les pectinase et le xylanase.

En outre, des informations précieuses sur le paysage fonctionnel de la séquence génomique de certains isolats offrent une base pour étudier la biologie, la physiologie et les applications biotechnologiques potentielles de ces bactéries est en cours.

La recherche future devrait se concentrer également sur :

- L'étude des interactions entre les différentes espèces bactériennes thermophiles présentes dans les sources thermales.
- Exploiter le potentiel des souches isolées et de leurs composés bioactifs produite : offrent de nombreuses perspectives d'applications innovantes dans des domaines variés tels que la chimie, la cosmétique, l'agriculture, la santé et l'environnement, grâce à leurs propriétés probiotiques, antimicrobiennes et molécules bioactives. Le typage moléculaire de ces souches est également un outil précieux en épidémiologie dans les établissements thermaux.

*Références
bibliographiques*

A

Aissat I and Mekki N. 2019. Isolement et caractérisation de bactéries de la source naturelle de Hammam Guergour (Nord de Sétif-Algérie). Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée. M'SILA : Université Mohamed Boudiaf, 57p.

Alain K., Geslin C., Godfroy A., Prieur D. 2010. Les thermophiles https://wwz.ifremer.fr/content/download/12612/file/fiche_big2010_thermophiles.

Albuquerque L., Santos J., Travassos P., Nobre M. 2002. *Albidovulum inexpectatum* gen.nov., sp. nov. A non-photosynthetic and slightly thermophilic *bacterium* from a marine hot spring that is very closely related to members of the photosynthetic genus *Rhodovulum*. Applied and Environmental Microbiology, 68 (9): 4266-73.

Alçiçek H., Bülbül A., Yavuzer L., Alçiçek M. 2019. Applications d'évaluation hydrogéochimique et isotopique et de géothermométrie en relation avec le champ géothermique de Karahayit (bassin de Denizli, sud-ouest de l'Anatolie, Turquie). Revue d'hydrogéologie, 27 (5), 1791-1816.

Alfredsson G., Kristjansson J., Hjrleifsdottir S., Stetter K. 1988. *Rhodothermus marinus*, gen. nov., sp. nov., a thermophilic, halophilic *bacterium* from submarine hot springs in Iceland. Microbiology, 134 (2), 299-306.

Amarouche-Yala S., Benouadah A., El Ouahab Bentabet A., Moulla A., Ouarezki S., Azbouche A. 2015. Physicochemical, bacteriological, and radiochemical characterization of some Algerian thermal spring waters. Water Quality, Exposure and Health, 7, 233-249.

April T., Foght J., Currah R. 1999. Hydrocarbon-degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada. Canadian Journal of Microbiology, 46(1),38-49.

Arai H., Shomura Y., Higichi Y., Ishii M. 2018. Complete Genome Sequence of a Moderately *Thermophilic* Facultative Chemolithoautotrophic Hydrogen-Oxidizing *Bacterium*, *Hydrogenophilus thermoluteolus* TH-1. Microbiology Resource Announcements, 7.6(2018): 00857-18.

Arbab S., Ullah H., Khan M., Khattak M., Zhang J., Li K., Hassan I. 2022. Diversity and distribution of thermophilic microorganisms and their applications in biotechnology. Journal of Basic Microbiology, 62(2), 95-108.

B

Bahri F., Saibi H., Cherchali M. 2011. Caractérisation, classification et détermination de la potabilité de quelques eaux thermales algériennes. Journal Arabe des Géosciences, 2011, vol 4.

Belghyti D., El Guamri Y., Ztit G., Ouahidi M., Joti M., Harchrass A., Amghar H., Bouchouata O., El Kharrim K., Bounouira H. 2010. Caractérisation physico-chimique des eaux usées d'abattoir en vue de la mise en œuvre d'un traitement adéquat : Cas de Kénitra au Maroc. Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie, 5(2).

Benkahoul M., Talhi A., Boulefkhad N. 2017. Bactéries des environnements chauds Algériens : Isolement et mise en évidence de la production d'hydrolases. Sciences Technologie. C, Biotechnologies, 25-35.

Ben Salem R., Fardeau M., Belhadj O. 2012. Caractérisation d'une souche bactérienne thermophile d'*Ureibacillus thermosphaericus* isolée à partir de la station thermale de korbous coproductrice des protéases et amylases. Association Tunisienne Des Sciences Biologiques.

Blowoux B. 1998. La formation des gisements d'eau minérale Ann. Mines (mai): 8-12.

Blumer-Schuette S., Kataeva I., Westpheling J., Adams, M., Kelly R. 2008. Extremely thermophilic microorganisms for biomass conversion: status and prospects. Current Opinion in Biotechnology, 19(3), 210-217.

Bouacem K., Amziane-Touazi M., Hania W., Cayol J., Fardeau M., Benayad T., Hacene H., Bouanane-Darenfed A. 2022. Isolation and characterization of moderately thermophilic aerobic cultivable bacteria from Hammam Righa Hot Spring (Algeria): Description of their hydrolytic capacities. Algerian Journal of Environmental Science and Technology, 8(3), 2533- 2545. Isolation and characterization of moderately thermophilic aerobic cultivable bacteria from Hammam Righa Hot Spring (Algeria): Description of their hydrolytic capacities | Bouacem | Algerian Journal of Environmental Science and Technology.

Bouacem K., Bouanane-Darenfed A., Boucherba N., Joseph M., GagaouaM., Ben Hania W., Kecha M., Benallaoua S., Hacène H., Ollivier B., Fardeau M. 2014. Partial characterization of xylanase produced by *Caldicoprobacter algeriensis*, a new thermophilic anaerobic *bacterium* isolated from an Algerian hot spring. Applied Biochemistry and Biotechnology, 174, 1969– 1981. DOI: 10.1007/s12010-014-1153-2.

Bouacem K. 2016. Caractérisation de souches bactériennes isolées à partir de sources thermales du Nord-Algérien, Etude des propriétés enzymatiques. Thèse de Doctorat, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene. 189. (PDF) Caractérisation

de souches bactériennes isolées à partir de sources thermales du Nord-Algérien: Etude des propriétés enzymatiques.

Bouacem K., Bouanane-Darenfed A., Jaouadi N., Joseph M., Hacene H., Ollivier B., Fardeau M., Bejar S., Jaouadi B. 2016. Novel serine keratinase from *Caldicoprobacter algeriensis* exhibiting outstanding hide dehairing abilities. International Journal of Biological Macromolecules, 86. 321-328. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.074>.

Bouanane-Darenfed A., Boucherba N., Bouacem K., Gagaoua M., Joseph M., Kebbouche G., Nateche F., Hacene H., Ollivier B., Cyol J., Fardeau M. 2016. Characterization of a purified thermostable xylanase from *Caldicoprobacter algeriensis* sp. nov. Strain TH7C1T. Carbohydrate Research, 419, 60-68. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2015.10.013>.

Boughalali M. 2003. Thermalisme et thalassothérapie en Algérie. La Presse thermique et climatique : 140-165.

Brochier-Armanet C., Boussau B., Gribaldo S., Forterre P. 2008. *Crenarchaeota mésophile* : proposition d'un troisième phylum archéen, le *Thaumarchaeota*. Nature Reviews Microbiologie, 6 (3), 245-252.

C

Cabrol C. 2011. Nitrates, nitrites, oxyde nitreux : nouvelles perspectives pour la santé. Colloque santé Académie Nationale de Médecine - ADICARE Paris - Hôpital de la Pitié Salpêtrière 31 Mars 2011.

Capece M., Clark E., Saleh J., Halford D., Heintz N., Hoskins S., Rothschild L. 2013. Polyextremophiles and the constraints for terrestrial habitability. In: Seckbach J., Oren A., Stan-Lotter, H. Polyextremophiles: life under multiple forms of stress. Springer, Dordrecht.

Capdepuy M et Canellas J. 1995. La flore bactérienne des eaux thermales et minérales. La Houille Blanche. No 2-3, 70-72.

Chaalal O., Islam M. 2001. Integrated management of radioactive strontium contamination in aqueous stream systems. Journal of environmental management, 61(1), 51-59.

Chen T., Chou Y., Chen W., Arun B., Young C. 2006. *Tepidimonas taiwanensis* sp. nov., a novel alkaline-protease-producing bacterium isolated from a hot spring. Extremophiles, 10, 35-40.

Chiellini C., Iannelli R., Lena R., Gullo M., Petroni G. 2014. Bacterial community characterization in paper mill white water. BioResources, 9: 2541-2559.

Chien A., Edgar D., Trela, J. 1976. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *Journal of bacteriology*, 127(3), 1550-1557.

Choi Jung-Min., Han Sung-Soo., Kim Hak-Sung. 2015. Applications industrielles de la biocatalyse enzymatique : état actuel et aspects futurs. *Advances in Biotechnology*, 33(7), 1443-1454.

Chulli B., Davraz A., Makni J., Bedir M., Ben Dhia H. 2012. Hydrogeological investigations of thermal waters in the Sfax Basin (Tunisia). *Environmental Earth Sciences*, 66, 1-16.

Coker J. 2016. Extremophiles and biotechnology: current uses and prospects. *F1000Res*.24;5: F1000 Faculty Rev-396. doi: 10.12688/f1000research.7432.1. PMID: 27019700; PMCID: PMC480670

Coman C., Drugă B., Hegedus A., Sicora C., Dragoș N. 2013. Archaeal and bacterial diversity in two hot spring microbial mats from a geothermal region in Romania. *Extremophiles*, 17 : 523–534.

Cordonnier J. 1997. Protection des réseaux de distribution par les inhibiteurs de corrosion. Choix et optimisation. *TSM. Techniques Sciences Méthodes, Génie Urbain Génie Rural*, (5), 75-82.

Crawford D., Crawford, R., Pasti-Grigsby M., Lewis T. 1996. Transformation du 2, 4, 6-trinitrotoluène (TNT) par des actinomycètes isolés d'environnements contaminés et non contaminés par le TNT. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 62 (3), 1120-1123.

D

Das R., Gerstein M. 2000. The stability of thermophilic proteins: à study based on comprehensive genome comparison. *Functional and integrative genomics*, 1, 76-88.

Desai Aman. 2011. Fabrication de sitagliptine : une histoire fascinante de chimie verte, d'intensification des procédés et de catalyse asymétrique industrielle. *Angewandte Chemie International Edition*, 50 (9), 1974-1976.

Des bruyères D., Biscoito M., Caprais J., Colaço A., Comtet T., Crassous P., Dhakan D., Saxena R., Chaudhary N., Sharma V. 2016. Draft genome sequence of *Tepidimonas taiwanensis* strain MB2, a chemolithotrophic thermophile isolated from a hot spring in Central India. *Genome Announcements*, 4 (1): 1723-15.

Des Marais D and Walter M. 2019. Terrestrial hot spring systems:

Introduction. *Astrobiology*, 19(12), 1419-1432.

Dhakan D., Saxena R., Chaudhary N., Sharma V. 2016. Draft genome sequence of *Tepidimonas taiwanensis* strain MB2, a chemolithotrophic thermophile isolated from a hot spring in Central India. *Genome Announcements*, 4 (1) : 1723-15.

Dib-Adjoul H. 1985. Le thermalisme de l'est algérien. Thèse de doctorat. 3^{ème} cycle, IST. USTHB 281p.

Dib H. 2008. Guide Pratique des sources thermales de l'Est Algérien, Mémoires du Service Géologique National. PMID: 18590574 PMCID: PMC 2459170.

Durand L., Planchon S., Guinebretiere M., Carlin F., Remize F. 2014. Genotypic and phenotypic characterization of foodborne *Geobacillus stearothermophilus*. *Food Microbiology*. 45, 103-110.

E

Elshaghabee F., Rokana N., Gulhan R., Sharma C., Panwar H. 2017. *Bacillus* as Potential Probiotics: Status, Concers and Future perspectives. *Frontiers Microbiology*, 10 (8): 1490.

Ellis J and Magnuson T. 2012. Thermostable and alkalistable Xylanases produces by the thermophilic *bacterium: Anoxybacillus flavithermus* TWXYL3. *International Scholarly Research Notices: Microbiology*, 517524.

Euzeby J. 2015. List of Prokaryotic Names with stinding in Nomenclature: a folder available on the Internet. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47: 590– 592.

F

Fadhlaoui K., Ben Hania W., Postec A., Hamdi M., Ollivier B., Fardeau M. 2016. *Balneicella halophila* gen. nov., sp. nov., an anaerobic *bacterium*, isolated from a thermal spring and description of *Balneicellaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(11), 4692-4696.

Fardeau M., Salinas M., Haridon S., Jeanthon C., Verhe, F., Cayol J., Patel B., Garcia J., Ollivier B. 2004. Isolation from oil reservoirs of novel thermophilic anaerobes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 467-474.

Ferrera I. and Reysenbach A. 2007. Thermophiles. *Encyclopedia of life sciences*, 1-9.

Ferris M., Ruffroberts A., Kopczynski E., Bateson M., Ward D. 1996. Enrichment culture and microscopy conceal diverse thermophilic *Synechococcus* populations in a single hot spring microbial mat habitat. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1045-1050. 16-

17.

Forterre P. 2007. Microbes de l'enfer. Ed Belin Paris, 250p.

Franzetti B. 2019. Microbes des environnements extrêmes. Encyclopédie de l'environnement, 9p.2555-0950.

Friedrich A., Antranikian G. 1996. Keratin degradation by *Fervidobacterium pennavorans*, a novel thermophilic anaerobic species of the order Thermotogales. Applied and environmental microbiology, 62(8), 2875-2882.

Fritze D. 2004. Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera, the aerobic endosporeforming *bacteria*. Phytopathology, 94 (11): 1245-8.

G

Giordano D. 2020. Bioactive Molecules from Extreme Environments. Mar Drugs ;18(12):640. PMID: 33327603; PMCID: PMC7765018.

Goh K., Kahar U., Chai Y., Chong C., Chai., Ranjani V., Illias R., Chan K. 2013. Recent discoveries and applications of *Anoxybacillus*. Applied Microbiology and Biotechnology, 97 (4): 1475-88.

Goodenough P and John A. 1991. Protein engineering to change thermal stability for food enzymes. Biochemical Society Transactions, 19(3), 655-662.

Goto E., Kodama T., Minoda Y. 1977. Isolation and culture conditions of *thermophilichydrogen Bacteria*. Agricultural and Biological Chemistry, 41 (4): 685-690.

Goto E., Kodama T., Minoda Y. 1978. Growth and taxonomy of thermophilic hydrogen Bacteria. Agricultural and Biological Chemistry, 42 (7): 1305-1308.

Grégoire P., Fardeau M., Guasco S., Bouanane A., Michotey V., Bonin P., Dubourg K., Cambar J., Ollivier B. 2009. Les microorganismes de l'extrême. La Presse thermique et climatique, 146, 49-61.

Guezennec, J. 2004. Les bactéries des sources hydrothermales profondes à l'origine de nouvelles molécules bioactives. VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement, 5(3).

Guven, K., Matpan Bekler, F., Gul Guven, R. 2018. Thermophilic and halophilic microorganisms isolated from extreme environments of Turkey, with potential biotechnological applications. *Extremophiles in eurasian ecosystems: ecology, diversity, and applications*, 219-264.

H

Hacéne H., Rafa F., Chebhouni N., Boutaiba S., Bhatnagar T., Baratti J., Ollivier B. 2004. Biodiversité de la microflore procaryote du lac salé d'El Golea, Sahara Algérien. *Journal des Environnements Arides*, 58 (3), 273-284.

Han Yin-Lung., Chang J., Lou Y., Chong L., Liu Chih H. 2017. Method for producing extracellular proteins from genus *Tepidomonas*. Industrial Technology Research Institutue. U.S. Patent No. 9,580,738. Washington, D.C: U.S. Patent and Trademark Office.

Hayashi N., Ishida T., Yokta A., Kodama J., Igarashi Y. 1999. *Hydrogenophilus thermoluteolus* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, facultatively chemiolithoautotrophic hydrogen-oxidizing bacterium. *International Journal of systematic Bacteriology*, 49: 783-786.

Heinemann Udo and Saenger Wolfram. 1982. Reconnaissance spécifique protéine-acide nucléique dans la complexe ribonucléase T1-2'-acide guanylique : une étude aux rayons X. *Nature*, 299 (5878), 27-31. Holden J.F., 2009. *Extremophiles: Hot Environments in Encyclopedia of microbiology*, 3rd Ed., Schaechter M. P: 127-146. Elsevier.

Holden J. 2009. *Extremophiles: Hot Environments in Encyclopedia of microbiology*, 3rd Ed., Schaechter M. P: 127-146. Elsevier.

Hoster F., Daniel R., Gottschalk G. 2001. Isolation of a new *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* strain producing a thermostable dextranase. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 47(4), 187-192.

Huber R., Huber H., Stetter K. 2000. Towards the ecology of hyperthermophiles: biotopes, new isolation strategies and novel metabolic properties. *Microbiology reviews*, 24(5), 615-623.

Huber R., Huber H., Stetter K. 2000. Vers l'écologie des hyperthermophiles : biotopes,

nouvelles stratégies d'isolement et nouvelles propriétés métaboliques. Revue de microbiologie, 24 (5), 615-623.

Hussein E., Jacob J., Shakhatreh M., Ali K., Abd Al-razaq M., Juhmani A., Cornelison C. 2017. Exploring the microbial diversity in Jordanian hot springs by comparative metagenomic analysis. Microbiology Open, 6(6), e00521.

I

In Bouacem, k. (2021). Cours L3 microbiologie.

Ishino S. and Ishino Y. 2013. DNA Polymerases and DNA ligases. In Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology, p: 429-457.

Issaadi A. 1992. Le thermalisme dans son cadre géostructural, apports à la connaissance de la structure profonde de l'Algérie et de ses ressources géothermales.

Ivanova G., Rákhely G., Kovács K. 2009. Thermophilic biohydrogen production from energy plants by *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and comparison with related studies. International Journal of Hydrogen Energy, 34(9), 3659-3670.

J

J.O.R.A (2006) : Journal officiel de la République Algérienne N°27. P 09-10.

K

Kevbrin V., Zengler K., Lysenko A., Wiegel J. 2005. *Anoxybacillus kamchatkensis* sp. nov., a novel thermophilic, facultative aerobic bacterium with a broad pH optimum from the Geysir Valley Kamchatka. Extremophiles, 9 (5) : 391-8.

Khayli Imerzouki M, Benlemlih M, Maniar M, El ouali L. 2011. Étude de la qualité physicochimique et bactériologique des eaux de la station thermale de Sidi Harazem (Maroc).

Kian M., Unnirul M., Yen Y., Chun S., Kian-Gan C. 2013. Découvertes et applications récentes d'*Anoxybacillus*. Applied Microbiology and Biotechnology, 97 (4):1475-1488.

Koel T., Tronstad L., Arnold J., Gunther K., Smith D., Syslo J., White P. 2019. Predatory fish invasion induces within and across ecosystem effects in Yellowstone National Park. Science advances, 5(3), eaav1139.

Kublanov I., Prokofeva M., Kostrikina N., Kolganova T., Tourova T., Wiegel J., Bonch-

Osmolovskaya E. 2007. *Thermoanaerobacterium aciditolerans* sp. nov., a moderate thermoacidophile from a Kamchatka hot spring. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(2), 260-264.

L

Lahlou mimi A., Ben dhia H., Bouri S., Lahrach A., Ben abidat L., Bouchareb-Haouchine F. 1998. Application of chemical geothermometers to thermal springs of the Maghreb, North Africa. *Geothermics*. 27(2):211-23.

Lakhdar A., Ntarmouchant A., Ribeiro M., Beqqali M., El Ouadeihe K., Benaabidate L., Dahire Y., Driouche M. 2006. Nouvelle approche géologique et géodynamique du Complexe Hydrothermal de Moulay Yacoub, bordure septentrionale du Sillon Sud Rifain *Comunicacoes Geologicas*, t. 93185-204.

La Moreaux P., Tanner J. 2001. Sources et eaux embouteillées du monde Histoire ancienne, source, occurrence, qualité et utilisation. Springer, Verlag Berlin.

Larbi Daouadji, K. 2015. Isolement et caractérisation des souches productrices de lipase. 165 pages. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat, microbiologie moléculaire et protéomique, faculté des sciences, Université Djillali Liabes, Sidi Bel abbes, Algérie.

Laslaz L. 2017. Le Blue Lagoon (Islande), une hétérotopie érigée en marque. *Mappemonde*. Revue trimestrielle sur l'image géographique et les formes du territoire, (122).

Lawyer F., Stoffel S., Saiki R., Chang S., Landre P., Abramson D., Gelfand D. 1993. High-level expression, purification, and enzymatic characterization of full-length *Thermus aquaticus* DNA polymerase and a truncated form deficient in 5' to 3' exonuclease activity. *Genome research*, 2(4), 275-287.

Liao W., Shen C., Lin L., Yang Y., Han H., Chen J., Liaw, C. 2012. Asperjinone, a nor-neolignan, and terrein, a suppressor of ABCG2-expressing breast cancer cells, from thermophilic *Aspergillus terreus*. *Journal of Natural Products*, 75(4), 630-635.

Liu Y., Yu P., Song X., Qu Y. 2008. Production d'hydrogène à partir de cellulose par coculture de *Clostridium thermocellum* JN4 et *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* GD17. *International Journal of Hydrogène Energie* 33 : 2927-2933

M

Madigan M et Martinko J. 2007. Brock Biologie des micro-organismes. Pearson Education, France.

Malek F. 2019. Bactéries sporulées et biofilms : un problème récurrent dans les lignes de production de lait reconstitué ou recombiné pasteurisé. *Journal Microbiol.* Jun ; 65(6) :405-420. French.

Margesin R and Schinner F. 2001. Biodégradation et bioremédiation des hydrocarbures dans des environnements extrêmes. *Application Microbiologie Biotechnologie* 56: 650–663.

Marquez S and Blamey J. 2019. Isolation and partial characterization of a new moderate thermophilic *Albidovulum* sp. *SLM16* with transaminase activity from Deception Island. *Antarctica Biology Research*, 52.

Mehta R., Singhal P., Singh H., Damle D., Sharma A. 2016. Insight into thermophiles and their wide-spectrum applications. *3 Biotech*, 6, 1-9.

Miyake D., Ichiki S., Tanabe M., Oda T. 2007. Thiosulfate oxidation by a moderately thermophilic hydrogen-oxidizing bacterium *Hydrogenophilus thermoluteolus*. *Archives of Microbiology*, 188 (2): 199-204.

Mukhtar S., Zaheer A., Dalaq A., Kauser A., Mehnaz S. 2018. Actinomycetes: A source of industrially important enzymes. *Journal of Proteomics Bioinformatics*.

N

Nazina T., Tourova T., Poltarau A., Novikova E., Grigoryan A., Ivanova A. 2001. Étude taxonomique des bacilles thermophiles aérobies : descriptions de *Geobacillus subterraneus* gen sp et *Geobacillus uzenensis* sp des réservoirs pétroliers et transfert de *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenuatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermodenitrificans* à *Geobacillus* comme nouvelles combinaisons *stearothermophilus*, G. *Revue internationale de microbiologie systématique et évolutive*, 51 (2), 433-446.

Nicholson K. 2012. Fluides géothermiques : chimie et techniques d'exploration. Médias scientifiques et commerciaux Springer.

O

Ohayon-Courtès C. 1995. Les eaux minérales sulfurées. Problématique générale. *La houille blanche*, (2-3), 111-117.

Ortega-Villar R., Escalante A., Astudillo-Melgar F., Lizárraga-Mendiola L., Vázquez-Rodríguez G., Hidalgo-Lara M., Coronel-Olivares C. 2024. Isolation and characterization of thermophilic bacteria from a hot spring in the state of Hidalgo, Mexico, and geochemical analysis of the thermal water. *Microorganisms*, 12(6), 1066.

Ouali S. 2008. Les sources thermales en Algérie. Centre de Développement des Energies Renouvelables, bulletin_013_10.

Ouali S, Hadjiat M, Ait-Ouali A, Salhi K, Malek A. 2018. Revue des énergies renouvelables Vol. 21 N°154 - 61, CDER B.P. 62, Route de l'Observatoire, 16340, Alger, Algérie.

Ould Cheikh M., El Kacemi K., Idrissi L. 2012. Caractérisation physico-chimique des eaux d'alimentation de la ville de Tijikja (Mauritanie). International journal of biological and chemical sciences, 5(5), 2133-2139.

Ousseina Moussa. 2019. Isolement et caractérisation de bactéries de la source naturelle de Hammam Guergour (Nord de Sétif-Algérie). Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée. M'SILA : Université Mohamed Boudiaf, 57p.

Oztas Gulmus E et Gormez A. 2020. Identification et caractérisation de nouvelles bactéries thermophiles provenant de sources chaudes, Erzurum, Turquie. Microbiologie actuelle, 77 (6), 979-987.

P

Pace A. 1997. Une vision moléculaire de la diversité microbienne et de la biosphère. Science, 276 (5313), 734-740.

Panda M., Sahu M., Tayung K. 2012. Isolation and characterization of a thermophilic *Bacillus sp.* with protease activity isolated from hot spring of Tarabalo, Odisha, India. Iranian journal of microbiology, 5(2), 159-165.

Panda A., Bisht S., De Mandal S., Kumar N. 2018. Diversité microbienne des thermophiles à travers le prisme du séquençage de nouvelle génération. Dans diversité microbienne à l'ère du génome (pp. 217-226) academic press.

Pandey A., Dhakar K., Sharma A., Priti P., Sat S., Kumar B. 2015. Thermophilic bacteria that tolerate a wide temperature and pH range colonize the soldhar (95°C) and ringigad (80°C) hot springs of Uttarakhand, India. Annals of microbiology, 65: 809-816.

Panichi C and La Ruffa G. 2009. Thermal Springs. Groundwater – Vol. I – Encyclopedia of Life Support Systems. (EOLSS).

Pasti-Grigsby M, Lewis T, Crawford, D., Crawford, R. 1996. Transformation du 2, 4, 6-

trinitrotoluène (TNT) par des actinomycètes isolés d'environnements contaminés et non contaminés par le TNT. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 62 (3), 1120-1123.

Paul S., Jain P., Mirta J., Dutta S., Bhattacharya P., Bal B., Bhattacharya D., Das Gupta S., Pal S. 2012. Induction of Cr (VI) reduction activity in an *Anoxybacillus* strain under heat stress: a biochemical and proteomic study. *FEMS Microbiology Letters*, 331 (1): 70-80.

Pikuta E., Lysenko A., Chuvilskay N., Mendrock U., Hippe H., Suzina N., Nikitin D., Osipov G., Laurinavichius K. 2000. *Anoxybacillus puschinensis* gen. nov. sp. nov. A novel anaerobic, alkaliphilic, moderately thermophilic bacterium from manure, and description of *Anoxybacillus flavithermus* combs. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50: 2109-2117.

Q

Querellou J and Guezennec J. 2010. *Biotechnologie des extrêmophiles*. Editions Tech. Ing.BIO580 ; P : 1-13.

R

Rawlings D and Johnson D. 2007. The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia. *Microbiology*, 153(2), 315-324.

Reetz M., Carballeira J., Vogel A. 2006. Mutagenèse itérative par saturation sur la base de facteurs B comme stratégie pour augmenter la thermostabilité des protéines. *Angewandte Chemie*, 118 (46), 7909-7915.

Ren N., Cao G., Wang A., Lee D., Guo W., Zhu Y. 2008. Fermentation sombre d'un mélange de xylose et de glucose en utilisant *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16 isolé. *Revue internationale de l'énergie hydrogène*, 33 (21), 6124-6132.

Robinson P. 2015. *Enzymes : principes et applications biotechnologiques*. Essais en biochimie, 59, 1.

Rodier J. 2005. *L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer : chimie, physico-chimie, bactériologie, biologie*. Dunod.

Rodier J., Bazin C., Broutin J., Chambon P., Champsau H., Rodi L. 2005. *L'analyse de l'eau : eau naturelle, résiduaire, eau de mer*, 8eme Ed. Pp :130-151.

Rigoldi F., Donini S., Redaelli A., Parisini E., Gautieri A. 2018. Ingénierie d'enzymes thermostables pour des applications industrielles. *APL Bioeng.* 2018.

S

Sadeghi M., Naderi-Manesh H., Zarrabi M., Ranjbar B. 2006. Facteurs efficaces dans la thermostabilité des protéines thermophiles. *Chimie biophysique*, 119 (3), 256-270.

Saibi H. 2015. Geothermal resources in Algeria. *Proceedings in World Geothermal Congress 2015*, Melbourne, Australia, 19–24 April.

Salame B, Bahhou J, Bennani B, Hour R, Bennani L. 2013. Qualité bactériologique et physico-chimique des eaux thermales d'ain allah région de fès (maroc). *Science lib editions mersenne* : volume 5, n ° 130505, 2111-4706.

Santos H., Lamosa P., Borges N., Gonçalves L., Pais T., Rodrigues M. 2011. Solutés organiques compatibles des procaryotes qui prospèrent dans des environnements chauds : l'importance des composés ioniques pour la thermostabilisation. Dans le manuel des extrémophiles.

Scott I., Rubinstein G., Lipscomb G., Basen M., Schut G., Rhaesa A. 2015. A New Class of Tungsten-Containing Oxidoreductase in the Genus of the Plant Biomass-Degrading, Thermophilic Bacteria *Caldicellulosiruptor*. *Appl. Environ. Microbiol.* Epub ahead of print.

Seckbach J. 1994. Voies évolutives et algues énigmatiques : *Cyanidium caldarium* (Rhodophyta) et cellules apparentées. Springer Science, Dordrecht.

Sen S., Raut S., Satpathy S., Rout P., Bandyopadhyay B., Das Mohapatra P. 2014. Characterizing novel thermophilic amylase producing bacteria from Taptapani hot spring, Odisha, India. *Jundishapur journal of microbiology*, 7(12).

Sharma S., Vaid S., Bhat B., Singh S., Bajaj B. 2019. Thermostable enzymes for industrial biotechnology. In *Advances in enzyme technology* (pp. 469-495). Elsevier.

Sherpa M., Das S., Thakur N. 2013. Analyse physicochimique des sources d'eau chaude du Sikkim Polok Tatopani, Borong Tatopani et Reshi Tatopani. *Rés récente. Sci. Technologie*. 5 (1), 63-67.

Shi J., Oger P., Cao P., Zhang L. 2023. ADN ligases thermostables issues d'hyperthermophiles en biotechnologie. *Front Microbiol.* ; 14 : 1198784.

Sigg L., Behra P., Stumm W. 2006. Chimie des milieux aquatiques. Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement, Paris, Dunod.

Slimani H and Belarbi Alaoui M. 2013. Le thermalisme et le développement durable dans la région de Fès–Boulemane. Subtavewung, P.H., Raksaskulwong, M.,amp; Tulyatid, J.2005 . The characteristic and classification of hot springs in Thailand. In *Proceedings World Geothermal Congress* (p. 7).

Sorensen K., Canfield D., Oren A. 2004. Salinity responses of benthic microbial communities in a solar saltern (Eilat, Israel). *Applied and environmental microbiology*, 70(3), 1608-1616.

Stetter K. 1999. Extremophiles and their adaptation to hot environments. *febs letters*. 452(1-2). 22-25.

Stöhr R., Waberski A., Liesack W., Völker H., Wehmeyer U., Thomm M. 2001. *Hydrogenophilus hirschii* sp. nov., a novel thermophilic hydrogen-oxidizing betaproteo bacterium isolated from Yellowstone National Park. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 481–488.

Subtavewung P., Raksaskulwong M., Tulyatid J. 2005. The characteristic and classification of hot springs in Thailand. In *Proceedings World Geothermal Congress* (p.7).

Susanti D., Johnson E., Lapidus A., Han J., Reddy T., Pilay M., Ivanova N., Markowitz V., Woyke T., Kyrpidis N. 2016. Permanent draft genome sequence of *Desulfurococcus mobilis* type strain DSM 2161, a *thermoacidophilic sulfur-reducing crenarchaeon* isolated from acidic hot springs of Hveravellir, Iceland. *Standards in Genomic Sciences*, 11(1),3.

Swarup A., Lu J., Dewoody K., Antoniewicz, M. 2014. Metabolic network reconstruction, growth characterization and ¹³C-metabolic flux analysis of the extremophile *Thermus thermophilus* HB8. *Metab. Eng.* 24, 173–180

T

Thong S., Prasertsan P., Karakashev D., Angelidaki I. 2008. Production d'hydrogène fermentaire thermophile par le *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* PSU-2 nouvellement isolé. *Revue internationale de l'énergie hydrogène*, 33 (4), 1204-1214.

U

Urios L., Cueff V., Pignet P., Barbier G. 2004. *Tepidibacter formicigenes* sp. nov, a novel sporeforming bacterium isolated from a Mid- Atlantic Ridge hydrothermal vent. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 439-443.

V

Vengosh A., Helvacı C., Karamanderesi H. 2002. Contraintes géochimiques pour l'origine des eaux thermales de l'ouest de la Turquie. *Géochimie appliquée*, 17 (3), 163-183.

Verma M and Kanwar S. 2012. Harnessing the Potential of Thermophiles: The Variant of Extremophiles. *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*, 6(1),

28-39.

W

Wang Y., Zhang H., Yan C., Liu Y., Xu Q., Liu X., Zhang Z. 2018. Effective biodegradation of Aflatoxin B1 using the *Bacillus licheniformis* (BL010) strain. *Toxins*, 10 (12), 497.

Wetzel R. 2001. Limnologie : écosystèmes lacustres et fluviaux. Édition professionnelle du golfe.

Wiegel J and Ljungdahl L. 1986. L'importance des bactéries thermophiles en biotechnologie. *Revue critique en biotechnologie*. 3,145.

Woese C., Kandler O., Wheelis M. 1990. Vers un système naturel d'organismes : proposition pour les domaines *Archaea*, *Bacteria* et *Eucarya*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87 (12), 4576-4579.

Wu L., Long H., Huang S., Niu X., Li S., You L., Ran X., Wang J. 2023. Diversité bactérienne dans l'eau des sources chaudes de Xifeng en Chine. *Revue brésilienne de microbiologie*, 54 (3), 1943-1954.

Y

Yadav P., Mharjan J., Korpole S., Prasad G., Sahni G., Bhattarai T., Sreerama L. 2018. Production, purification, and characterization of thermostable alkaline xylanase from *Anoxybacillus kamchatkensis* NASTPD13. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 6, 65.

Yin D., Xiao J., Ao J., Ai C., Chen X. 2012. *Albidovulum xiamenense* sp. nov., a moderately thermophilic bacterium from a terrestrial hot spring. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 1609-1612.

Sites web

- [1] [En.ligne] https://fr.123rf.com/photo_50256799_beppu-japon%C3%A0-la-mer-quot-hell-quot-source-d-eau-chaude-ainsi-nomm%C3%A9-pour-son-eau-bleu-.html (20 mai 2024).
- [2] [En.ligne] https://es.wikipedia.org/wiki/Fuente_hidrotermal (24 mai 2024).
- [3] [En.ligne] <https://englishosaca.wordpress.com/eight-grade/yellowstones-hot-secret/yellowstone-lake-and-caldera> (30 mai 2024).
- [4] [En.ligne] <https://www.voyage.fr/boussole-et-sac-dos/les-plus-beaux-geysers-dislande> (02 juin 2024).
- [5] [En.ligne] <https://whc.unesco.org/fr/documents/131622> (19 juin 2024).
- [6] [En.ligne] <https://fr.wikiloc.com/itineraires-tout-terrain/douar-shira-sidi-harazem-36410297/photo-24249947> (22 juin 2024).
- [7] [En.ligne] https://www.tripadvisor.com/LocationPhotoDirectLink-g2446676-d2446682-i41555650-Natural_hot_springs-Korbous_Nabeul_Governorate.html (22 juin 2024).
- [8] [En.ligne] https://www.unige.ch/medecine/application/files/3814/5613/9938/BrochureMicrobio_2011_3.pdf (29 juin 2024).
- [9] [En.ligne] <https://www.google.com/maps/place/Hammam+K'sana/36.1860944,3.9623483> (29 juin 2024).

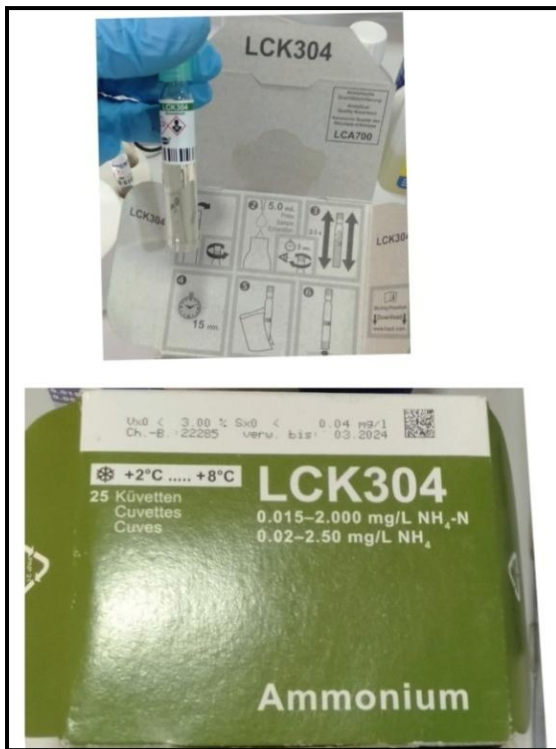
Annexes

Annexe 1

Tableau 1 : Le matériel et produits utilisés

Appareils opératoires	Verreries	Milieux
<ul style="list-style-type: none"> -hotte microbiologique -Agitateur chauffant à barreau magnétique -Autoclave -Étuve (Systec) -Bain Marie -Balance analytique (ME104) -Réfrigérateur (4°) -pH mètre -Plaque chauffante(Stuart) -Distillateur -Vortex -Appareil LCK(HACH) - Le thermostat (HT 200S) -ICP-MS - SI Analytics (TitroLine5000) -Microscope optique 	<ul style="list-style-type: none"> -Pipettes Pasteur -Anse à fil droit -Falcon en verre -Becher -Spatule -Fiole jaugée 	<ul style="list-style-type: none"> -Gélose nutritive -Gélode TSA -AgarAgar -Gélose Plate Count Agar (PCA) -Mannitol mobilité -Bouillon nitrate -Bouillon clarck et lubs -Viande-foie -Gélose TSI -Citrates de Simmons

Annexe 2



Dosage d'ammonium



Dosage d'azote



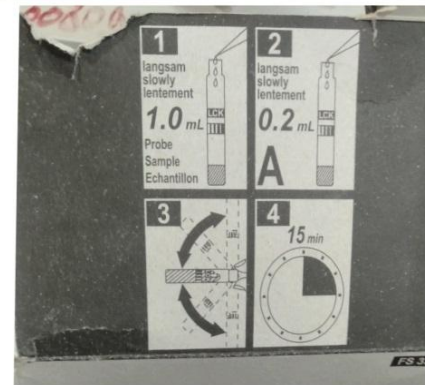
Dosage de sulfate



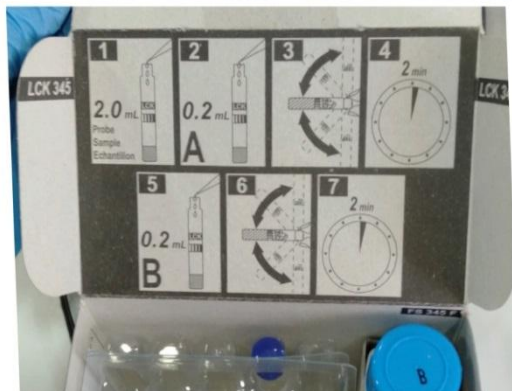
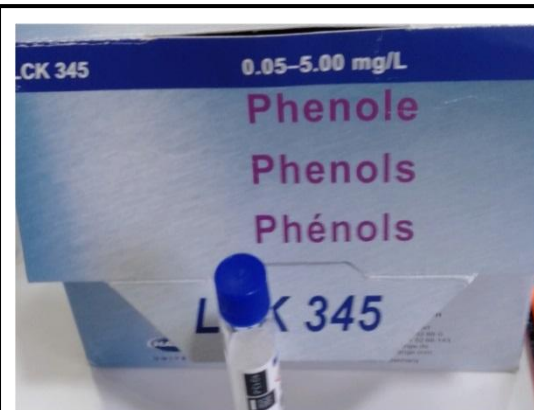
Dosage de nitrite



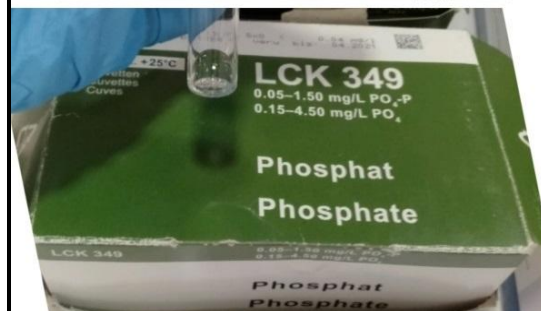
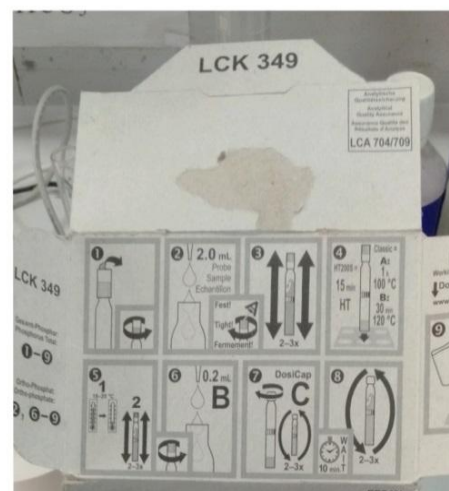
Dosage de cyanure



Dosage de nitrate



Dosage de phenole

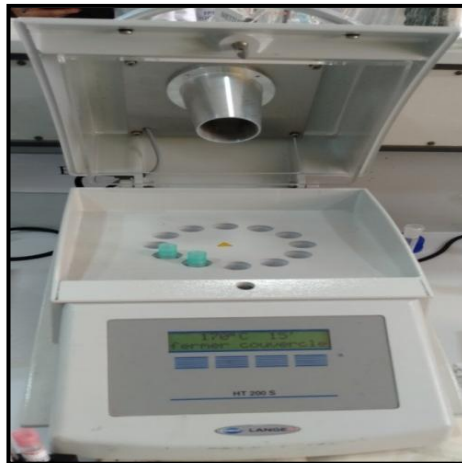


Dosage de phosphate

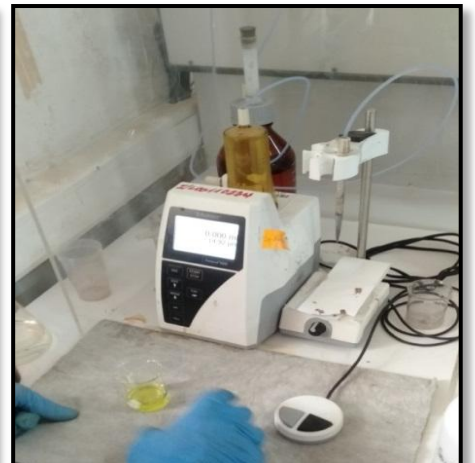
Annexe 3



Appareil LCK (HACH)



Le thermostat (HT 200S)



SI Analytics (TitroLine5000)

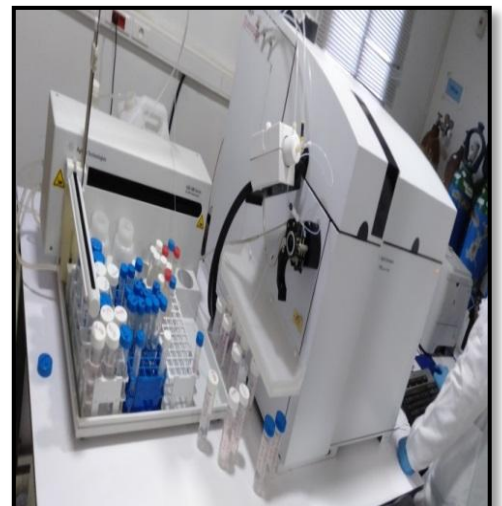
Annexe 4



Un conductimètre



Un débiomètre



ICP-MS

Annexe 5

Coloration de Gram

- Réaliser un frottis bactérien et le fixer à la flamme.
- Recouvrir le frottis de la solution de cristal violet, laisser agir 1 minute.
- Rincer à l'eau.
- Recouvrir la préparation de Lugol, laisser agir 45 secondes, deux fois.
- Rincer à l'eau.
- Décolorer à l'alcool 95°, laisser agir 30 secondes.
- Rincer à l'eau courante.
- Recouvrir la lame de la solution de Fuchsine, laisser agir 1 minute.
- Rincer abondamment à l'eau, égouttée, sécher entre deux feuilles de papier buvard très propres.
- Observation au grossissement X 100 avec une goutte d'huile à immersion.

Résumé

L'Algérie est l'un des pays les plus riches en termes de sources hydrothermales, avec plus de deux cents quatre vingts sources chaudes. Cependant, des communautés microbiennes diverses et peu décrites colonisent ces habitats, ce qui en fait un sujet de recherche intrigant. Notre travail a porté sur la caractérisation physico-chimique et l'évaluation de la qualité sanitaire des eaux thermales de hammam K'sana dans la wilaya de Bouira et la recherche des bactéries à intérêt biotechnologique. L'analyse physico-chimique a révélé une composition minérale diverse, aucun germe pathogène n'a été détecté. Douze souches ont été isolées dans les conditions d'aérobiose. Ces isolats ont présenté une diversité morphologique, physiologique, biochimique et métabolique importante. Egalement, elles ont présenté des activités enzymatiques très intéressantes : cellulase, amylases, protéases, chitinase, pectinase, xylanases, Intéressantes.

Mots clés : Hammam k'sana, bactéries thermophiles, criblage enzymatique, enzymes thermostables.

Abstract

Algeria is one of the richest countries in terms of hydrothermal springs, with more than two hundred eighty hot springs. However, diverse and poorly described microbial communities colonize these habitats, making them an intriguing research topic. Our work focused on the physicochemical characterization and evaluation of the health quality of the thermal waters of the K'sana hammam in the wilaya of Bouira and the research of bacteria of biotechnological interest. The physicochemical analysis revealed a diverse mineral composition, no pathogenic germs were detected. Twelve strains were isolated under aerobic conditions. These isolates presented significant morphological, physiological, biochemical and metabolic diversity. Also, they presented very interesting enzymatic activities: cellulase, amylases, proteases, chitinase, pectinase, xylanases, Interesting.

Keywords: Hammam k'sana, thermophilic bacteria, enzymatics careening, thermostable enzymes.

المخلص

تعتبر الجزائر من أغنى الدول من حيث الينابيع الحرارية المائية، حيث يوجد بها أكثر من مائتي وثمانون ينبوع حار. ومع ذلك، فإن المجتمعات الميكروبية المتنوعة وقليلة الدراسة تستعمر هذه الأوساط، مما يجعلها موضوعاً بحثياً مثيراً للاهتمام. ركز عملنا على التحليل الفيزيوكيميائي وتقييم الجودة الصحية للمياه الحرارية بحمام كسانا في ولاية البويرة والبحث عن البكتيريا ذات الأهمية البيوتكنولوجية خاصة في إنتاج الأنزيمات. كشف التحليل الفيزيائي الكيميائي عن تركيبة معدنية متنوعة، ولم يتم اكتشاف أي جراثيم ممرضة. تم عزل اثنتي عشرة سلالة تحت الظروف الهوائية، وقد أظهرت هذه العزلات تنوعاً مورفولوجياً وفسولوجياً وبيوكيميائياً وأيضياً كبيراً. كما قدموا أنشطة إنزيمية مثيرة جداً لاهتمام الأميليز، البروتياز، الكيتيناز، البكتيناز، الزيلاناز، مثيرة للاهتمام.

الكلمات الدالة : حمام كسانا، البكتيريا المحبة للحرارة، الفحص الأنزيم، الإنزيمات الحرارية.