



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية العلوم الطبيعية والحياة

Département : Biologie Appliquée

قسم : البيتروولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Biothérapie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Essai d'isolement des bactéries thermophiles productrices d'enzymes à partir de la source thermale de Béni Guecha. Wilaya de (Mila).

Présenté par : Mamane Doka Awali

Houyam Laouamri

Le : 11/06/2024

Jury d'évaluation :

Président : Dr. Madi Aicha (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine1).

Encadrant : Dr. Adjeroud Moussa (MCA- Université Frères Mentouri, Constantine1).

Examineur(s) : Dr. Djelid Hadjer (MAB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2023 - 2024

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Allah, le Tout-Puissant et le Miséricordieux, pour nous avoir accordé la force, la santé et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce mémoire.

*En premier lieu, nous remercions sincèrement notre encadrant **Mr Moussa Adjeroud** maitre de conférences catégorie A à l'université de Constantine 1, pour sa patience, ses conseils avisés et son soutien constant tout au long de ce projet. Ses suggestions et ses critiques constructives ont été inestimables pour l'aboutissement de ce travail.*

*Nous tenons à remercier, **Madame Madi Aicha**, maitre de conférences catégorie A à l'université Frère Mentouri de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Nous remercions également cette très belle âme **Mme Djelid Hadjer**, maitre de conférences catégorie B à l'université Frère Mentouri d'avoir accepté d'examiner notre modeste travail, c'est un grand honneur pour nous.*

*Nous tenons aussi à remercier de tout cœur les ingénieurs du laboratoire de microbiologie générale à la faculté des sciences de la nature et de la vie **Mesdames Dekkiche Besma Anfel** et **Lakroune Ratiba** d'avoir ménagé aucun effort dans le bon déroulement de ce travail en étant très gentilles envers nous. Sans oublier de remercier les ingénieurs du laboratoire de biophysique Mesdames **Zeroude Nadia** et **Boumalite Maya** nous ne vous remercions jamais et qu'Allah vous le rende au centuple.*

*Nos sincères remerciements à l'endroit de tous les personnels administratifs de la faculté en particulier ceux du département de biologie Appliquée sans oublier de noter le nom **Madame Hassia**.*

*Nous remercions également tous les enseignements du département plus précisément ceux de la spécialité **biotechnologie et biothérapie** pour la qualité de l'enseignement en occurrence **M. kacem Chaouche, Mme Adoui, Mme Djelid Hadjer** .*

DEDICACES

A mes chers parents,

A vous qui m'avez donné la vie, l'amour et le soutien nécessaires pour accomplir mes rêves,

Je dédie ce mémoire, fruit de mon travail et de ma persévérance.

Depuis mon enfance, vous avez cru en moi et en mes capacités. Vous m'avez inculqué des valeurs essentielles telles que le travail, la rigueur et l'ambition.

Vos encouragements constants et votre foi en moi m'ont permis de surmonter les obstacles et de persévérer dans les moments difficiles.

Je suis reconnaissant pour votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible.

Ce mémoire est autant le vôtre que le mien. Il représente l'aboutissement d'années d'études et d'efforts, mais aussi l'accomplissement d'un rêve que nous avons partagé ensemble.

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi. Je vous aime de tout mon cœur.

*Je remercie également mon cher oncle **Ousmane Ibrahim**, merci pour tout ton aide financier et moral à mon égard, j'en suis éternellement reconnaissant.*

*Nos sincères remerciements vont à l'endroit de mes frères et sœurs notamment ma petite chérie de valeur **Salamatou Mamane Doka**, je t'aime beaucoup !*

*Je remercie mes amis nigériens de la résidence dont entre autres **Mohamed Hakim, Hassan, Abdoul Moumoun, Abba Bachir...** Et ceux des autres nationalités. A toutes mes collègues de notre spécialité je vous dis merci !*

Merci à tous mes amis et proches pour tous soutiens inconditionnels.

Awali

DEDICACES

Je dédie ce mémoire :

*A **Allah** le tout puissant, le tout miséricordieux, pour m'avoir montré ce jour.*

A mes chers parents :

*A la reine, à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, à ma moitié ; la seule personne au monde qui est toujours avec moi, à celle qui m'a tout donnée sans rien demander, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur, à mon plus grand exemple, ma mère **ZAUCHE Abla**.*

*Au roi, qui m'a donné son nom, l'homme de ma vie ; qui a fondé mon bien être, à celui qui n'a jamais cessé de me guider vers tout ce qui est bon dans la vie, à ma grande fierté mon père **LAOUAMRI Farid**.*

Merci de trimer sans relâcher malgré les difficultés de la vie, tout simplement Merci d'être mes parents.

*A la plus belle âme, à la personne qui me couvre le plus d'amour et câlins, à celle qui m'a appris la force, la sagesse, la tolérance et la tendresse, ma grande mère Mamy **BOUSSAID Souad**.*

*A mes frères **Mouhayman, Mouhtadi** et le petit chouchou de la famille **Maher**, pour leur amour fraternel.*

*A ma petite tante, mon adorable sœur docteur **ZAUCHE Rania** d'avoir été toujours là pour moi, qu'Allah la bénisse.*

A tous les diplômés de l'année 2023-2024, en particulier aux Palestiniens qui n'ont pas pu être à ma place à cause de la guerre.

A moi-même et à tous ceux qui me sont chers et tous ceux qui m'aiment.

Houyam

Listes des abréviations

pH : potentiel hydrogène

ADN : acide désoxyribonucléique

PCR : réaction en chaîne par polymérase

EPS : exo polysaccharides

LPS : lipopolysaccharides

PHA : polyhydroxyalcanoates

GN : gélose nutritive

TSA : gélose trypto-caséine soja

MN : milieu naturel

G- : Gram négatif

G+ : Gram positif

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

°C : Degré Celsius

µm : Micromètre

CO : Monoxyde de carbone

Listes des figures

Figure 1 : Exemple des biotopes naturels des thermophiles	7
Figure 2:(A) Geysir Pohutu Nouvelle-Zélande, (B) Geysir d'el Tatio Chili	8
Figure 3:(a) Zone de prélèvement, (b) source thermique de Béni Guecha	27
Figure 4 : Photographies des échantillons	28
Figure 5 : Photos des milieux utilisés	29
Figure 6 : Photo du logiciel upbm le lab api	34
Figure 7 : Photos des colonies isolées sur les milieux gn, tsa,mn	40
Figure 8 : Photographies de 6 souches isolées de la source thermique de Béni Guecha après purification	41
Figure 9 : Aspects microscopiques des souches sélectionnées ; observation au microscope photonique et à immersion (x100).....	43
Figure 10 : Résultats du test de catalase	44
Figure 11 : résultat du test de mannitol-mobilité.....	44
Figure 12 : Galerie api 20e appliquée sur les milieux gn, tsa ; mn	45
Figure 13 : Photos des boites après les tests enzymatiques	49
Figure 14 : Les noms des bactéries avec leurs pourcentages d'identification	53

Liste des tableaux

Tableau 1 : Microorganismes thermophiles producteurs des enzymes protéolytiques.....	16
Tableau 2 : Enzymes amylolytiques thermostables.....	18
Tableau 3 : Adn polymérase thermostables.....	20
Tableau 4 : Exemples d'enzymes thermostables et leurs applications.....	21
Tableau 5 : Tableau de la lecture de la galerie api 20e.....	35
Tableau 6 : Caractérisation des souches obtenues à partir des trois milieux	42
Tableau 7 : Résultats de la galerie api 20e des souches isolées	46
Tableau 8 : Résultats des tests enzymatiques des souches isolées	47

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Chapitre I : Les environnements extrêmes

Introduction.....	1
I. Définitions des eaux thermales	2
I.1 Origine des eaux thermales	2
I.2. Classification des sources thermales	3
I.2.1 Classification selon la prédominance ionique	3
I.2.2. Classification selon la température d'apparition.....	3
I.2.3 Le classement en fonction de la conductivité.....	4
I.2.4. Classification selon l'acidité ou la basicité.....	4
I.3 Les sources thermales terrestres.....	4
I.3.1 Fumeroles et solfatares terrestres	6
I.3.2 Les geysers.....	7
I.4.1 Les bactéries.....	8
I.4.2 Les Archées	9
I.4.3 Les algues	9
I.4.4 Eucarya	9
I.5 Paramètres physico-chimiques influençant la composition des communautés microbiennes thermophiles.....	10
I.5.1 Température	10
I.5.2 Le pH	10

I.5.3 La salinité.....	10
I.6 Mécanismes de survie dans les environnements chauds	11
I.6.1 Les protéines	11
I.6.2 Les acides nucléiques	12
I.6.3 La membranes cytoplasmique.....	12

Chapitre II : les potentialités Biotechnologiques et industrielles des thermophiles

II. Applications biotechnologiques.....	13
II.1 Applications basées sur cellules entières.....	13
II.1.1 Biolixiviation des métaux.....	13
II.2 Applications basées sur les biomolécules	14
II.2.1 Les enzymes.....	14
II.2.1.1 Les enzymes protéolytiques.....	14
II.2.1.2 Les enzymes amylolytiques	17
II.2.1.3 Carboxylestérases : lipases et estérases.....	19
II.2.1.4 Enzymes de l'ADN	19
II.2.1.5 Autres enzymes thermostables	20
II.3 Biopolymères	22
II.3.1 Les exo polysaccharides	22
II.3.1.1 Polyhydroxyalcanoates (PHA).....	23
II.4 Applications industrielles	24
II.4.1 Production d'éthanol.....	24
II.4.2 Production des biogaz	24
II.4.3 Extraction du pétrole	25
II.4.4 Traitement des eaux usées	25

Matériel et méthodes

III. 1 Description du site d'échantillonnage.....	27
III.2 Échantillonnage	28
III.3 Isolement, purification et conservation des isolats.....	29

III.3.1 Les milieux de cultures utilisés	29
III.4 Identification	30
III.4.1 Etude Macroscopique.....	30
III .4.2 Examen microscopique	30
III .4.2.1 La coloration de Gram	30
III.5 Recherches des enzymes respiratoires	31
III.5.1 La catalase	31
III .5.2 Mannitol mobilité	31
III.5. 3. Caractérisation biochimique par la galerie Api 20 E	32
III.6 Mise en évidence des enzymes extracellulaires	36
III.6.1 Détermination de l'activité amylolytique.....	36
III.6.2 Détermination de l'activité Estérases	36
III.6.3 Détermination de l'activité caséinolytique	36
III.6.4 Détermination de l'activité gélatinolytique.....	37

Résultats et discussion

III.7 La physico-chimie de la source thermale de Beni Guecha	39
III.8 L'isolement	40
III.9 Purification	41
III.10 Identification	42
III.10.1 Identification macroscopique	42
III.10. 2 Identification microscopique	43
III .11 Recherches des enzymes respiratoires	44
III.11.1 La catalase	44
III.11.2 Le test mannitol mobilité.....	44
III.11.3 Résultats de la galerie plaque API 20 ^E	45
III.12 Mise en évidence des enzymes extracellulaires	47

Références bibliographiques

Résumés

Annexes

Introduction

Introduction

Les zones géothermiques, caractérisées par des températures élevées et des sources d'énergie uniques, constituent un environnement favorable à la prolifération de micro-organismes spécifiques appelés thermophiles. Ces micro-organismes ont développé des adaptations remarquables leur permettant de survivre et de se développer dans des conditions extrêmes, faisant des zones géothermiques leurs habitats principaux (**Adiguzel et al., 2009**).

Les sources géothermiques, se manifestent par grappes dans des zones rares du globe où les conditions les favorisent. Cette particularité les rend accessibles uniquement dans certaines régions, les plus connues et étudiées étant l'Islande, les États-Unis (**Kanekar & Kanekar, 2022**).

Depuis quelques années, les chercheurs de divers horizons se penchent sur le cas fascinant des microorganismes extrémophiles. En raison de leur capacité à produire des enzymes thermostables uniques et utiles pour divers processus biotechnologiques à haute température, les micro-organismes thermophiles (ayant une croissance optimale à 50°C ou plus) ont suscité un grand intérêt industriel et biotechnologique parmi les extrémophiles (**Akmar et al., 2011**).

La diversité des sources thermales en Algérie, influencée par la géologie et les propriétés physico-chimiques de chaque site, offre un éventail de milieux uniques pour les bactéries thermophiles. Des variations de températures, contribuent à cette diversité, créant une mosaïque d'habitats adaptés à différentes espèces (**Pandey et al. (2015)**).

Le but de notre travail consiste en un essai d'isolement de bactéries thermophiles productrices d'enzymes à partir d'une source thermale de l'Est Algérien.

Ce travail est ainsi réparti en trois parties :

- Une première partie consacrée aux données bibliographiques relatives aux thermophiles et qui est divisée en deux chapitres (les environnements extrêmes et les potentialités biotechnologiques et industrielles des thermophiles).
- Une deuxième partie qui traite le matériel et les méthodes utilisés pour l'élaboration de ce travail. Les résultats obtenus ainsi que leurs discussions constituent la troisième partie.
- Enfin ce travail se clôturera par une dernière partie qui est la conclusion et des perspectives.

I. Définitions des eaux thermales

L'eau thermale est une eau minérale naturelle qui jaillit de la terre à une température d'au moins 25 degrés Celsius (77 degrés Fahrenheit). Elle est riche en minéraux et en oligo-éléments, qui lui confèrent ses propriétés curatives (Porowski, 2018).

Une source chaude est une source souterraine dont la température de l'eau est supérieure à celle des zones environnantes.

I.1 Origine des eaux thermales

Les eaux thermales peuvent avoir 03 origines : une origine superficielle, profonde ou mixte (Nicholson, 1993 ; Panichi et La Ruffa, 2014).

- **Origine superficielle** : les eaux thermales d'origine superficielle proviennent des précipitations (pluie, neige). Elles s'infiltrent ensuite dans les profondeurs de l'écorce terrestre grâce à la gravité et aux forces capillaires, empruntant des fissures dans les terrains imperméables. Lorsqu'elles atteignent des zones plus chaudes, ces eaux s'échauffent et se chargent en minéraux et en oligo-éléments présents dans les roches. Elles remontent ensuite vers la surface par des fissures dans les terrains poreux, créant des sources thermales (Kanekar & Kanekar, 2022).
- **Origine profonde** des eaux thermales réside dans la condensation progressive de gaz et de vapeur provenant du magma en fusion dans les régions volcaniques. En remontant vers la surface, ces gaz et vapeurs se refroidissent et se liquéfient, créant ainsi ce qu'on appelle les "eaux juvéniles (Liu et al., 2011).
- **Origine mixte** l'origine de l'eau est double et provient d'un mélange d'eaux juvéniles profondes et d'eaux vadoses superficielles. Ce mélange se produit en proportions variables pendant la remontée des eaux vers la surface.

I.2 Classification des sources thermales

Plusieurs systèmes de classification ont été établis pour les eaux thermales, Parmi les plus connues, on distingue la classification chimique et la classification physique. La classification chimique se base sur l'ion dominant présent dans l'eau, tandis que la classification physique prend en compte des paramètres tels que le pH, la conductivité et la température à la source (Issaadi, 1992 ; Dib, 2008).

I.2.1 Classification selon la prédominance ionique

La composition ionique d'une eau thermo minérale, c'est-à-dire sa teneur en anions et en cations, détermine sa richesse ou sa pauvreté en éléments minéraux. Cette composition est à l'origine des effets thérapeutiques de l'eau lors d'une cure thermale. En fonction de sa composition, l'eau peut être classée selon différentes catégories (Issaadi, 1992 ; Dib, 2008).

- Eau sulfatée → $\text{SO}_4^{2-} > 200 \text{ mg/l}$
- Eau calcique → $\text{Ca}^{++} > 150 \text{ mg/l}$
- Eau sodique → $\text{Na}^+ > 200 \text{ mg/l}$
- Eau bicarbonatée → $\text{HCO}_3^- > 600 \text{ mg/l}$
- Eau magnésienne → $\text{Mg}^{++} > 50 \text{ mg/l}$
- Eau chlorurée → $\text{Cl}^- > 200 \text{ mg/l}$
- Eau fluorée → $\text{F}^- > 1 \text{ mg/l}$
- Eau ferrugineuse → $\text{Fe} > 5 \text{ mg/l}$

I.2.2 Classification selon la température d'apparition

En mesurant la température, on peut obtenir des informations précieuses sur l'origine, la circulation et l'alimentation des eaux thermales en profondeur. En fonction de leur température, les eaux thermales se répartissent en quatre groupes distincts. Il s'agit d'une :

- **Eau hypo thermale** si la valeur de la température relevée lors de l'émergence est plus basse que la moyenne des températures annuelles du lieu d'émergence additionnée à 4°C.
- **Eau métriothermale** si la température à l'émergence n'atteint pas 30°C, mais elle est néanmoins plus chaude qu'une eau hypo thermale.
- **Eau méso thermale** si la température à l'émergence doit être supérieure à 30°C et inférieure à 50°C.
- **Eau hyperthermale** lorsque la température à l'émergence est supérieure à 50°C mais inférieure à 100°C (Issaadi, 1992).

I.2.3 Le classement en fonction de la conductivité

Issaadi (1992) a classé les sources minérales et thermales d'Algérie en quatre catégories distinctes, basées sur leur conductivité électrique mesurée en Ohms (Ω), unité équivalente au Siemens (S). Voici les quatre classes définies

Classe 1 $\rightarrow \Omega < 2000 \mu\text{S/cm}$

Classe 2 $\rightarrow 1000 \mu\text{S/cm} < \Omega < 7000 \mu\text{S/cm}$

Classe 3 $\rightarrow 7500 \mu\text{S/cm} < \Omega < 15000 \mu\text{S/cm}$

Classe 4 $\rightarrow \Omega > 15000 \mu\text{S/cm}$

I.2.4 Classification selon l'acidité ou la basicité

L'eau thermique est classée en acide, neutre ou alcaline ; la géologie du sol et des roches profondes traversées par cette eau influence grandement son pH : Si la roche calcaire domine, l'eau sera basique. Par contre, en présence de roche granitique, l'eau a une tendance acide à cause des teneurs élevées en acide silicique des roches cristallines (Sigg et al., 2006). En plus de la richesse de ces eaux en soufre et en sulfures où le potentiel de production d'acide dépasse la capacité tampon des minéraux de base présents (Goebel et al., 2000).

I.3 Les sources thermales terrestres

Les eaux des sources chaudes présentent généralement de fortes concentrations de nombreux éléments et peuvent être fortement sursaturées avec une variété de minéraux. Ceux-ci comprennent généralement le H_2S , le CO_2 , les composés organiques de faible poids moléculaire, le CH_4 , le H_2 , le NH_3 et les oligo-éléments (Brock 1978). L'interaction chimique avec les roches réservoirs et les minéraux formant les roches le long du chemin de remontée affecte la composition de l'eau chaude, qui peut être très acide ou alcaline. Leur température varie de l'ébullition ou de la surchauffe à leurs sources à la température ambiante sur leurs rives. Les sources chaudes sont présentes dans de nombreux pays à travers le monde. Les pays réputés pour leurs sources chaudes comprennent l'Islande, la Nouvelle-Zélande, le Chili et le Japon, mais il existe également des sources chaudes intéressantes et uniques dans de nombreux autres endroits. Le parc national de Yellowstone (Wyoming, États-Unis) possède l'un des plus grands nombres de sources chaudes au monde (Mehta & Satyanarayana, 2013).

Ces écosystèmes présentent des caractéristiques uniques :

Salinité élevée environ 3% (p/v), comparable à l'eau de mer, pH variable légèrement acide (pH 5,0) et légèrement alcalin (pH 8,5), émissions volcaniques (Vapeur d'eau dioxyde de carbone Sulfure d'hydrogène), quantités variables d'autres gaz (hydrogène, méthane, azote, monoxyde de carbone) traces d'ammonium et de nitrate (**Huber et al., 2000**). De plus les composés soufrés majeurs présents dans les zones marines chaudes sont le soufre, le thiosulfate et le sulfate. Il existe des systèmes hydrothermaux côtiers dans plusieurs régions du monde : Italie, Açores, Indonésie, Islande, etc. Les systèmes hydrothermaux océaniques se situent dans les zones de fractures tectoniques. Les cheminées des fumeurs noirs émettent un fluide hydrothermal quasi pur pouvant atteindre 350°C. Le long des parois, un gradient de température se crée à cause du refroidissement par l'eau de mer à 3°C. Les thermophiles se nichent dans la paroi poreuse des fumeurs et dans les sédiments chauds environnants (**Huber et al., 2000**). Lorsque l'eau surchauffée dans les systèmes terrestres se rapproche de la surface, la pression diminue, provoquant l'éjection de l'eau sous forme de jets ou de bulles d'eau chaude, connus sous le nom de geysers comme le montre **la figure 2**. Partout dans le monde, on retrouve des systèmes thermiques terrestres. En Islande, au Parc de Yellowstone aux États-Unis, en Nouvelle-Zélande, au Japon, en Algérie et dans bien d'autres endroits (voir Figure 2), ces systèmes fascinants témoignent de la chaleur interne de notre planète. En raison de variations importantes dans la composition minérale, nutritive et la concentration en gaz, ainsi que le pH allant de 1 à 10, les sources chaudes présentent une grande diversité de conditions physiques et géochimiques. Il existe sur le territoire algérien plus de 240 sources thermales, réparties géographiquement entre le Nord (plus particulièrement dans les régions de l'Oranie, de la Kabylie et du Constantinois) et le Sud du pays (la région orientale du Sahara septentrional algérien) (**Ouali et al., 2007 ; Saibi, 2009**). La température des sources thermales en Algérie varie considérablement, allant de 22°C à 98°C. Cette variation est due à plusieurs facteurs, dont la profondeur de la nappe phréatique, la composition géologique du sol et la nature du trajet emprunté par l'eau. Les températures les plus élevées sont enregistrées à Hammam Bouhnifia (68°C) pour la région Ouest, à Hammam El Biban (80°C) dans la région Centre, et à Hammam Meskhoutine (98°C) pour la région Est. Dans la région Sud, certaines sources chaudes dépassent parfois les 50°C (**Saibi, 2009**).

I.3.1 Fumeroles et solfatares terrestres

Une fumerolle (également connue sous le nom d'évent de vapeur) est une ouverture dans la croûte terrestre, souvent dans les zones volcaniques, qui émet de la vapeur et des gaz tels que du dioxyde de carbone, du dioxyde de soufre, de l'acide chlorhydrique et du sulfure d'hydrogène. Il contient si peu d'eau qu'elle se transforme en vapeur avant d'atteindre la surface. Les fumerolles peuvent apparaître le long de minuscules fissures ou de longues fissures et à la surface des coulées de lave. La Solfatare fait référence aux fumerolles qui émettent des gaz sulfureux. Les solfatares se trouvent dans les champs solfatares. Les champs solfatares sont constitués de sols, de pots de boue et d'eaux de surface (sources riches en soufre), chauffées par les exhalaisons volcaniques des chambres magmatiques situées en dessous d'eux. Ils peuvent avoir des températures allant jusqu'à 100°C (**Satyanarayana et al., 2013**).

La composition chimique des champs solfatares est très variable et dépend de la géologie environnante. Les solfatares peuvent être légèrement acides à légèrement alcalins (pH 5 à 8) ou extrêmement acides, avec des valeurs de pH inférieures à 1,0. La condition acide est due à la production d'acide sulfurique (H_2SO_4) à partir de l'oxydation biologique de H_2S et S^0 . De tels environnements chauds et riches en soufre se retrouvent partout dans le monde, notamment en Italie, en Islande, en Nouvelle-Zélande et dans le parc national de Yellowstone dans le Wyoming (États-Unis). Beaucoup d'entre eux sont riches en minéraux de fer comme les hydroxydes ferriques et la pyrite. La vapeur contenue dans les expirations solfatares est principalement responsable du transfert de chaleur. De plus, ils peuvent contenir du CO_2 ; de quantités variables des H_2 , CH_4 , N_2 et CO ; et des traces de nitrate et d'ammoniac.

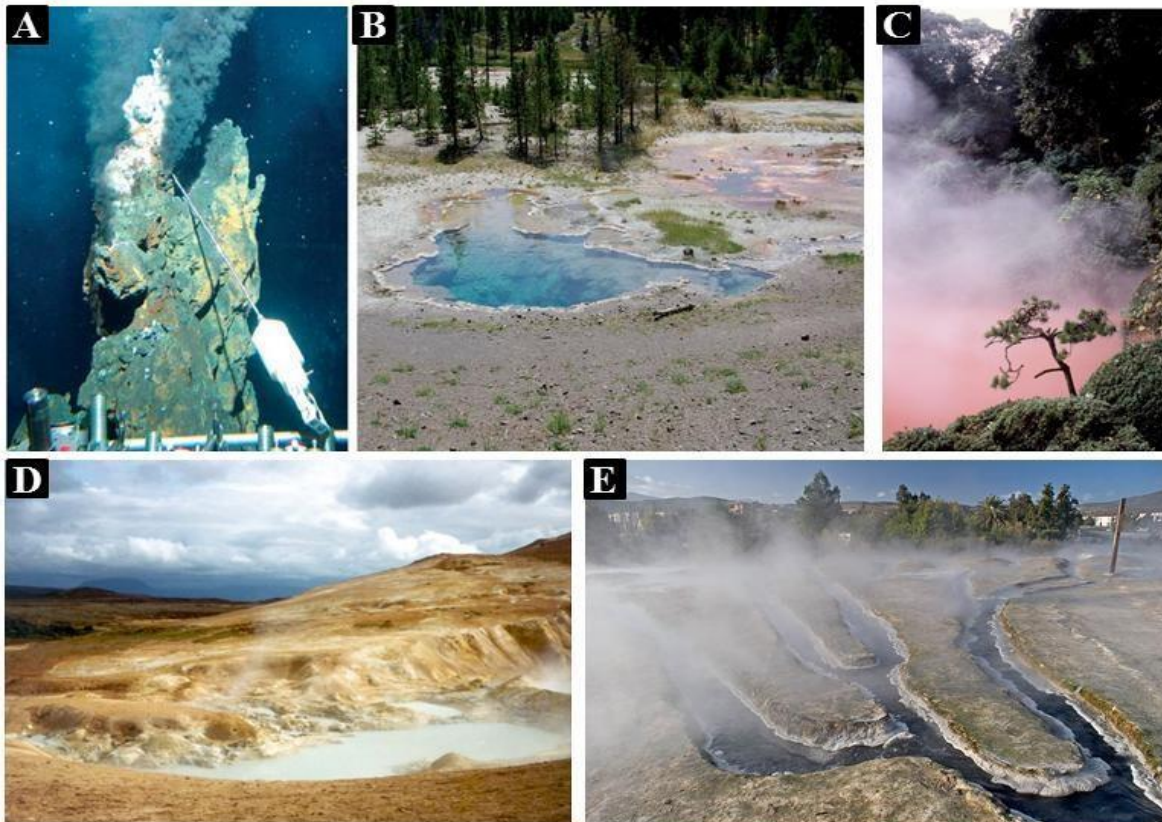


FIGURE 1: EXEMPLE DES BIOTOPES NATURELS DES THERMOPHILES

A. Cheminée d'un passage hydrothermique sous-marin du Pacifique ; B. Octopus Spring, parc national de Yellowstone, Etats-Unis ; C. Sources chaudes, Beppu, a Kyushu, Chine ; D. Sources chaudes, Kra fla, N´amaskard, Islande ; E. Source chaude Meskhoutine, Guelma, Algérie [A-B (Ferrera et Reysenbach, 2007) ; C-D (Calteau, 2005)].

I.3.2 Les geysers

Les geysers, ces merveilles naturelles rares, attirent les regards par leurs éruptions spectaculaires d'eau bouillante et de vapeur. Ces manifestations géologiques uniques ne se rencontrent qu'à quelques endroits du globe, les plus célèbres étant situés aux États-Unis, en Russie, en Nouvelle-Zélande, au Chili et en Islande (Detay et Thomas, 2013).

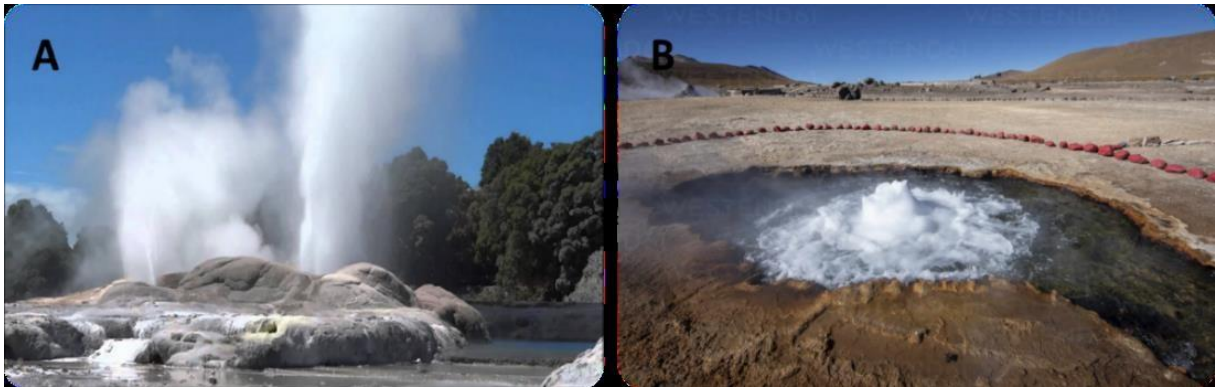


FIGURE 2:(A) GEYSER POHUTU NOUVELLE-ZELANDE, (B) GEYSER D'EL TATIO CHILI

Source (A) <https://images.app.goo.gl/uME4g1BooENbzYAGA> ; Source (B) <https://www.offset.com>

I.4 La diversité microbienne des sources thermales

Diverses études culturelles et indépendantes ont été menées pour comprendre leur diversité dans les sources chaudes. Il est généralement admis que moins de 1 % des « espèces » microbiennes existantes ont été cultivées (Ward 1998) et que la majorité ne se développent pas dans des milieux d'isolement conventionnels (Vetriani et al. 1998). Les recherches sur la diversité microbienne à l'aide de méthodes indépendantes de la culture constituent une approche valable pour l'évaluation de la véritable diversité microbienne (Jeanthon 2000).

I.4.1 Les bactéries

Le monde des bactéries est riche en organismes adeptes des températures élevées, qu'on appelle thermophiles et hyperthermophiles. Parmi ces extrémophiles, on trouve même des bactéries photosynthétiques. *Chlorobaculum tepidum*, anciennement connue sous le nom de *Chlorobium tepidum*, est une bactérie photosynthétique anaérobie appartenant à la lignée des bactéries vertes sulfureuses. Elle a été isolée d'une source chaude en Nouvelle-Zélande et se développe à l'optimum à des températures de 47-48°C. Parmi les bactéries vertes non sulfureuses, on trouve des espèces thermophiles, capables de prospérer dans des environnements chauds, avec des températures pouvant atteindre 60°C. Un exemple notable est le genre *Chloroflexus*, qui regroupe des bactéries phototrophes anaérobies non obligatoires. Ces bactéries préfèrent les environnements au pH légèrement alcalin.

Les cyanobactéries, organismes photosynthétiques produisant de l'oxygène, regroupent également des espèces thermophiles. Parmi ces espèces, *Synechococcus vulcanius* se distingue par sa température de croissance optimale avoisinant les 60°C. D'autres espèces peuvent même prospérer jusqu'à 74°C. Les thermotogales (avec les genres *Thermotoga*, *Petrotoga*, *Geotoga*, *Marinitoga*, *Thermosipho*) comportent des nombreuses espèces thermophiles et hyperthermophiles. On les trouve dans les sources hydrothermales terrestres et marines, ainsi que dans les réservoirs pétroliers. *Thermotoga maritima* est une bactérie hétérotrophe et anaérobie stricte qui tire son énergie de la fermentation de divers composés organiques. Cette espèce thermophile prospère dans les sources chaudes marines, où elle trouve des températures optimales entre 55°C et 90°C, avec un pic d'activité à 80°C (Daniel, 2014).

I.4.2 Les Archées

Les archées extrémophiles sont considérées comme les formes de vie les plus primitives existant encore et constituent une source précieuse de biocatalyseurs thermoactifs et thermostables (Mehta & Satyanarayana, 2013).

Pyrococcus furiosus, *Thermococcus kodakarensis*, *Methanococcus jannaschii*, *Pyrobaculum islandicum*, *Acidianus tengchongensis*, *Pyrobaculum organotrophum* et *Pyrobaculum aerophilum* sont des espèces appartenant au domaine des Archées qui se développent de manière optimale à des températures autour de 100 °C (Sadeepa et al., 2024).

I.4.3 Les algues

Des algues thermophiles, capables de supporter des conditions extrêmes telles que des températures élevées, une lumière intense, un pH variable et une faible teneur en nutriments, ont été identifiées dans des écosystèmes géographiquement distincts à travers le monde. Les espèces algales thermophiles les plus fréquemment recensées sont *Mastigocladus laminosus*, *Galdieria sulphuraria*, *Cyanidium caldarium*, *Leptolyngbya*, *Arthronema*, ainsi que des espèces de *Synechococcus* et de *Thermosynechococcus* (Sadeepa et al., 2024)

I.4.4 Eucarya

Chez les eucaryotes, le phénomène de thermophilie n'est pas aussi extrême que chez les procaryotes, seul quelques espèces d'algues et de champignons sont capables de se reproduire à des températures légèrement élevées (60°C). *Mucor pusillus* a été le premier champignon modérément thermophile à être isolés du pain, il y a plus d'un siècle. Présentement, environ 30 espèces de champignons ont été découvertes parmi lesquelles nous avons les

Phycomycètes, les ascomycètes, *Mycelia sterilia* qui sont des thermophiles modérés dont leur limite de croissance est aux alentours de 62°C.

En ce qui concerne les algues, leur température de croissance maximale est aux alentours de 60°C. *Galdiera sp.*, *Cyanidiochyzon sp.*, *Cyanidium caldarium* sont des algues thermophiles unicellulaires considérées comme le seul groupe phototrophe oxygénique dans les bassins acides en dessous de pH 5 où il y a absence de cyanobactéries (Ferrera et Reysenbach, 2007).

I.5 Paramètres physico-chimiques influençant la composition des communautés microbiennes thermophiles

I.5.1 Température

La température est le paramètre principal influençant la distribution des thermophiles. Chaque espèce thermophile possède de température optimale pour sa croissance et sa survie. Les microorganismes thermophiles notamment les bactéries se développent à des températures situées entre 50°C et 121°C (Karine, et al., 2014).

I.5.2 Le pH

Le pH joue un rôle crucial dans la composition des communautés microbiennes thermophiles en influençant. La plupart des thermophiles prospèrent dans des environnements neutres à légèrement acides (pH 6-8). Cependant, certains thermophiles acidophiles peuvent survivre à des pH très bas (inférieur à 2), tandis que d'autres thermophiles alcalophiles préfèrent des pH élevés (supérieur à 9) (Larbi 2016).

I.5.3 La salinité

Les thermophiles halophiles se sont adaptés à des environnements salins, comme les lacs salés et les sources chaudes marines. Elles peuvent tolérer des concentrations de sel élevées, jusqu'à la saturation. En revanche, les thermophiles non halophiles sont sensibles à la salinité et ne peuvent survivre que dans des milieux à faible concentration en NaCl. (Benzerfa et al., 2021).

I.6 Mécanismes de survie dans les environnements chauds

La structure et les activités cellulaires sont affectées par divers facteurs, notamment la température. Pour qu'un microbe puisse se développer à haute température, ses principaux composants, notamment les protéines, les acides nucléiques et les lipides, doivent être capables de résister à la chaleur. Ainsi, les thermophiles ont accumulé diverses adaptations qui leur permettent de prévaloir et de prospérer à des températures élevées (**Agarwal et Mathur, 2017**).

I.6.1 Les protéines

Les protéines ont développé des moyens de maintenir leur intégrité et leur fonction à des températures élevées. Ceux-ci incluent l'augmentation de la teneur en paires d'ions ou le passage d'une structure monomère à une structure oligomère ; des réseaux supplémentaires de liaisons hydrogène ; une augmentation de la formation de liaisons disulfure ; diminuant la longueur des boucles de surface qui relient les éléments de structure secondaire ; et échange d'acides aminés pour augmenter la propension en hélice des résidus dans les hélices α . Il a probablement été démontré que la présence de liaisons ioniques non covalentes appelées ponts salins à la surface d'une protéine joue un rôle majeur dans le maintien de la structure biologiquement active des protéines (**Ulucay et al., 2022**).

En plus de ces facteurs, certaines protéines auxiliaires, telles que les chaperonnes moléculaires, facilitent également la thermo stabilité des protéines (**Guta et al., 2024**).

Les archées hyperthermophiles produisent des classes spéciales des chaperonnes qui fonctionnent uniquement aux températures de croissance les plus élevées.

Une chaperonine connue sous le nom de thermosome a été caractérisée à partir des thermophiles *Methanopyrus kandleri*, *Pyrococcus abyssi* et *Pyrodictium occultum*. On pense que ce complexe lie les protéines dénaturées par la chaleur, empêche leur agrégation, les replie dans leur forme active et aide les cellules à survivre, même à des températures supérieures à leur température de croissance maximale (**Mehta & Satyanarayana, 2013**).

I.6.2 Les acides nucléiques

Plusieurs facteurs peuvent se combiner pour conférer une stabilité thermique à l'ADN chez les thermophiles, notamment des niveaux élevés de K^+ , d'ADN gyrase inverse et d'histone ou d'autres ADN-protéines de liaison. Cytoplasme des méthanogènes hyperthermophiles. *Methanopyrus* contient des niveaux molaires de potassium et de 2,3-diphosphoglycérate cyclique. Ce soluté empêche la dépurination ou la dépyrimidation de l'ADN, qui provoque une mutation à haute température.

Le surenroulement positif de l'ADN peut être un facteur important de stabilisation de l'ADN à des températures élevées. Tous les hyperthermophiles produisent une protéine unique appelée gyrase inverse. Il s'agit d'une ADN topoisomérase de type I (Mehta & Satyanarayana, 2013).

I.6.3 La membrane cytoplasmique

Les membranes cellulaires opèrent comme une frontière perméable, contrôlant le passage des substances de faible poids moléculaire (Mehta *et al.*, 2016). Chez les microorganismes thermophiles, la biosynthèse de membranes riches en acides gras saturés à chaîne droite et pauvres en acides gras insaturés permet de prévenir la dénaturation de la bicouche lipidique. Les acides gras saturés sont plus hydrophobes que les acides gras insaturés. Les acides gras à longue chaîne ont un point de fusion plus élevé que les acides gras à chaîne courte. Les acides gras saturés et à longue chaîne renforcent la stabilité de la membrane cellulaire (Vavitsas *et al.*, 2022).

II. Applications biotechnologiques

Les microorganismes thermophiles représentent une nouvelle frontière pour la biotechnologie. Les travaux de recherche sur les thermophiles sont pour une grande partie motivée par les applications biotechnologiques déjà acquises et par celles susceptibles de reposer sur des biomolécules aux propriétés nouvelles pouvant déboucher sur le développement de nouveaux produits (Quéréllou et Guezennec, 2010).

On peut distinguer deux types d'applications différentes, la première repose sur l'utilisation directe des microorganismes. C'est le cas en particulier pour les applications liées à la bioremédiation (ensemble des procédés visant à la restauration d'un écosystème grâce à la stimulation des populations microbiennes indigènes ou à l'apport de populations adaptées) et à la biolixiviation (ou procédé dans lequel les microbes sont utilisés pour le traitement des minerais). Le second type d'applications repose sur l'utilisation des biomolécules issues des thermophiles. Ce sont les enzymes, mais aussi les protéines, les lipides, les polymères, et une grande diversité des métabolites secondaires. (Ibtissam et Mekki, 2019).

II.1 Applications basées sur cellules entières

Il s'agit des applications pour lesquelles l'utilisation des biomolécules purifiées à partir des cultures est non rentable ou des applications qui requièrent l'action directe d'une population microbienne, voire d'un mélange complexe de différentes espèces (Quéréllou et Guezennec, 2010).

II.1.1 Biolixiviation des métaux

La lixiviation microbienne ou biolixiviation est utilisée essentiellement pour concentrer les métaux (cuivre, or et uranium) lorsque les concentrations initiales du minerai sont faibles et que les procédés chimiques conventionnels ne sont pas rentables. (Bosecker, 1997). Pour l'extraction du cuivre, le procédé de lixiviation fait tout d'abord appel à un arrosage du minerai par une solution acide contenant du fer ferrique (Fe^{3+}) produit à partir de fer ferreux (Fe^{2+}) par les bactéries de l'espèce *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Cette opération solubilise le cuivre. L'étape suivante vise à précipiter le cuivre par des copeaux de fer (Fe^0) et une production de fer ferreux. Le rôle des bactéries dans ce procédé consiste à oxyder (Fe^{2+}) en (Fe^{3+}). *A. ferrooxidans* est une acidophile mésophile

Également utilisée pour la biolixiviation de l'or et de l'uranium. Toutefois, l'oxydation biologique des composés sulfurés inorganiques réduits est importante pour limiter leur contribution à la création d'un film de passivation à la surface des métaux qui réduirait les rendements d'extraction. Cette passivation est éliminée lorsque la biolixiviation est effectuée à haute température avec des espèces thermoacidophiles. Les opérations peuvent se dérouler en milieu ouvert, et dans ce cas le processus ne fait pas appel à une seule espèce mais à des consortiums dominés par des espèces microbiennes thermoacidophiles. **(Quérellou et Guezennec, 2010).**

II.2 Applications basées sur les biomolécules

La plupart des applications des thermophiles sont basées sur l'utilisation de leurs biomolécules. La plus connue est la PCR ou amplification génique in vitro qui repose sur les propriétés des ADN polymérase thermostables. D'autres, plus anciennes comme l'utilisation de protéases alcalines dans l'industrie des détergents, sont moins médiatisées, mais d'usage tout aussi généralisé. Plus récemment, le développement de solutions intégrées, combinant à la fois la chimie et l'enzymologie, pour répondre à des processus industriels de conversion complexes est basé sur l'utilisation des nouvelles enzymes. **(Ibtissam et Mekki).**

II.2.1 Les enzymes

Les microorganismes thermophiles présentent des potentialités biotechnologiques intéressantes pour leurs enzymes thermostables. **(Leduc et Leballeur, 1991).** Les enzymes thermostables et hyperthermostables font partie d'une catégorie d'enzymes appelées extremozymes **(Vielle et Zeikus, 2001).** Puisque la plupart des processus industriels s'opèrent à des températures élevées, les thermozymes deviennent les plus utilisées comme biocatalyseurs des processus biotechnologiques qu'ils soient scientifiques ou industriels. **(Madigan et al., 2003).**

II.2.1.1 Les enzymes protéolytiques

Les protéases sont des enzymes largement utilisées dans plusieurs secteurs de l'industrie et de la biotechnologie **(Mótyán et al., 2013).** Elles peuvent être classées en exopeptidases ou en endopeptidases (protéinases). Le premier groupe clive la liaison peptidique à proximité des extrémités amino ou carboxy du substrat. Les endopeptidases coupent les liaisons peptidiques éloignées des extrémités du substrat. **(Kieliszek et al., 2021)**

Chapitre II : Les potentialités biotechnologiques et industrielles des thermophiles

Les protéases sont les enzymes industrielles les plus utilisées, elles représentent environ 60 à 65% du marché mondial total à l'échelle commerciale.

Les enzymes protéolytiques thermostables illustrées dans le **tableau 1** ci - dessous ont plusieurs applications dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, laitières, de tannage et textiles, dans le traitement du cuir comme agent épilant, dans la gestion des déchets ménagers et la bioremédiation, etc. **(Kieliszek et al., 2021)**

Parmi ces protéases microbiennes, la kératinase qui fait partie à la famille des protéases à serine et qui doit avoir une importance biotechnologique primordiale puisqu'elle hydrolyse la substance polypeptidique la plus rigide, la kératine qui est insoluble dans l'eau, les bases et les acides faibles et même dans les solvants inorganiques. Ce polypeptide s'accumule dans les poils, les plumes, les cheveux, les angles ...etc. **(Friedrich et Antranikian, 1996 ; Gupta et Rarnmani, 2005)**. Les kératinases sont largement produites dans des milieux basiques qui contiennent la kératine comme seule source de carbone et d'azote par plusieurs microorganismes notamment les thermophiles représentés dans **le tableau n 1. (Tsiroulnikov et al, 2004)**.

Chapitre II : Les potentialités biotechnologiques et industrielles des thermophiles

TABLEAU 1: MICROORGANISMES THERMOPHILES PRODUCTEURS DES ENZYMES PROTEOLYTIQUES

Microorganisme	Enzyme	Propriété	Référence
<i>Bacillus sp. B18'</i>	Protéase Alkaline	T _{opt} : 85°C pH _{opt} : 12.0-13.0	(Fujiwara et al., 1993)
<i>Bacillus sp. Mo-1</i>	Protéase Collagénolytique	-	(Okomato et al., 2001)
<i>Fervido bacterium Permavorans</i>	Kératinase	T _{opt} : 85°C pH _{opt} : 12.0-13.0	(Friedirich et Antranikian, 1996)
<i>Humico lalanuginosa</i>	Protéase Alkaline	-	(Maheshwari et al., 2000)
<i>Penicillium dupontii</i>	Protéasee Acide	pH _{opt} : 2.5-3.5	(Maheshwari et al., 2000)
<i>Pyrococcus furiosus</i>	Pyrolysine	T _{opt} : 115°C pH _{opt} : 6.0-10.0	(Eggen et al., 199)
<i>Pyrococcus furiosus</i>	Protéase S	T _{opt} : 85°C	(Vielle et Zeikus, 2001)
<i>Staphylothermus Marinus</i>	-	pH _{opt} : 9.0	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>Thermo anaerobacter keratinophilus</i>	Kératinase	T _{opt} : 60-85°C pH _{opt} : 7.0-8.0	(Gupta et Ramnani, 2005)
<i>Thermotga maritima</i>	-	T _{opt} : 95°C pH _{opt} : 9.5	(Gupta et Ramnani, 2005)
<i>Thermus aquaticus Tok 3</i>	Caldolase	T _{opt} : 95°C	(Eggen et al., 1990)

II. 2.1.2 Les enzymes amylolytiques

L'amylase est une enzyme qui utilise l'hydrolyse comme mécanisme de décomposition. L'hydrolyse est une réaction de décomposition dans laquelle une molécule d'eau réagit avec une molécule de la substance à décomposer. L'amylase catalyse spécifiquement la décomposition des polysaccharides. (Tiwari et al., 2015).

Les enzymes appartenant aux amylases, endo amylases et exoamylases, sont capables d'hydrolyser l'amidon. Ces enzymes sont classées selon la manière dont la liaison glycosidique est attaquée. Les enzymes dégradant l'amidon se trouvent dans les nombreuses familles de glycosides hydrolases. (Tiwari et al., 2015).

Les enzymes amylolytiques sont largement appliquées dans plusieurs processus industriels comprenant la fabrication des sucres, la liquéfaction d'amidon pour produire l'alcool, les textiles et l'industrie de papier (Mamo et al., 1999 ; Jensenet Olsen, 1992). Dans tous ces processus, la bioconversion de l'amidon s'effectue haute température à faisant intervenir des amylases thermostables. (Mamo et al., 1999). Elle passe par trois étapes : Une gélatinisation qui conduit la production d'une suspension visqueuse, une à liquéfaction caractérisée par une hydrolyse partielle et une perte de viscosité, et en fin une saccharification qui aboutit la formation des sirops de glucose, de maltose et à d'oligosaccharides. (Vielle et Zeikus, 2001 ; Haki et Rakshit, 2003).

Les amylases microbiennes les plus intéressantes du point de vue biotechnologique sont produites par des bactéries ainsi que par des mycètes thermophiles, la production se fait au cours de la phase stationnaire comme le montre le Tableau n 2. (Uma Maheswar Rao et Satyanarayana, 2003).

Chapitre II : Les potentialités biotechnologiques et industrielles des thermophiles

TABLEAU 2: ENZYMES AMYLOLYTIQUES THERMOSTABLES

Enzyme	Origine	Propriétés	Référence
α amylase	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	T _{opt} : 70-90°C pH _{opt} : 5.5-7.0	(Sicard et al., 1982)
	<i>Bacillus sp. TS. 23</i>	T _{opt} : 70°C pH _{opt} : 9.0	(Lin et al., 1998)
	<i>Bacillus thermoleovorans NP54</i>	T _{opt} : 100°C pH _{opt} : 8.0	(Malhotra et al., 2001)
	<i>Pyrococcuswoesei</i>	T _{opt} : 100°C pH _{opt} : 5.0	(Koch et al., 1990)
	<i>Thermo coccus hydrothermalis</i>	T _{opt} : 85°C pH _{opt} : 4.8-7.8	(Levêque et al., 2000)
	<i>Thermo myceslanuginosus</i>	T _{opt} : 60°C pH _{opt} : 4.6-5.2	(Jensen et Olsen, 1992)
β amylase	<i>Clostridium thermosulphurogenes</i>	T _{opt} : 75°C pH _{opt} : 5.5	(Haki et Rakshit, 2003)
	<i>Thermoanaro bacterium</i> <i>Thermo sulphurogenes</i>	T _{opt} 75°C pH _{opt} : 5.5-6.0	(Vielle et Zeikus, 2001)
Pullulanase	<i>Fervidobacterium pennavorans</i>	T _{opt} : 80-85°C pH _{opt} : 6.0	(Vielle et Zeikus, 2001)
	<i>Pyrococcus furiosus</i>	T _{opt} : 110°C	(Illanes, 1999)

II .2.1.3 Carboxylestérases : lipases et estérases

Les enzymes hydrolysant les esters carboxyliques sont ubiquistes et ont été trouvées dans les trois domaines du vivant et chez certains virus. En présence d'eau, elles catalysent l'hydrolyse d'une liaison ester pour donner un alcool et un acide carboxylique. Dans un solvant organique, elles peuvent catalyser la réaction inverse ou une transestérification. Il existe deux groupes d'enzymes très connues dans la famille des hydrolases d'esters carboxyliques : les lipases et les hydrolases. Les estérases se distinguent des lipases par leur préférence pour les acyl esters à chaîne courte et ne sont pas actives sur les substrats qui forment des micelles. Elles ne requièrent pas de cofacteur, présentent une bonne chimio sélectivité, régiosélectivité et énantiosélective. Bien que leur rôle physiologique ne soit pas toujours connu, les estérases et les lipases ont trouvé de multiples applications dans les industries médicales, agroalimentaires, énergie grâce à leurs propriétés en synthèse organique, production de détergent, de biodiesel, synthèse d'arômes, etc. Elles constituent l'une des cibles majeures des travaux de recherche en biocatalyse (**Quérellou et Guezennec, 2010**).

II.2.1.4 Enzymes de l'ADN

Les technologies de l'ADN recombinant reposent sur l'utilisation d'enzymes très diverses : enzymes de restriction (coupant l'ADN en des sites précis), ADN polymérases, ADN ligases, etc. Les ADN polymérases thermostables reflétées dans **le tableau n 3** jouent un rôle fondamental dans les techniques d'ingénierie du vivant grâce à leur aptitude à amplifier un gène donné à des millions de copies au moyen de la réaction de PCR. Cette réaction (Polymérase Chain Réaction) comporte un nombre variable de cycles de température (en moyenne 30) : dénaturation des doubles brins d'ADN à 94 C ; hybridation des amorces à 40-60 C selon leur composition ; élongation des amorces et synthèse du brin complémentaire à 72 C. (**Quérellou et Guezennec, 2010**).

TABLEAU 3: ADN POLYMERASES THERMOSTABLES

Enzyme	Origine	Propriété	Référence
<i>BstI pol</i>	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	-	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>C therm ADN pol</i>	<i>Carboxydo thermushydrogenoforans</i>	Topt : 70°C	(Vielle et Zeikus, 2001)
<i>Pfu pol</i>	<i>Pyrococcus furiosus</i>	Topt : 75°C	(Etienne, 1995)
<i>Pwo pol</i>	<i>P. woesei</i>	-	(Etienne, 1995)
<i>Tma pol</i>	<i>Thermotoga maritima</i>	-	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>Taq pol I</i>	<i>Thermus aquaticus</i>	Topt : 75°C	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>Vent ADN pol</i>	<i>Thermus olitoralis</i>	Topt : 75°C	(Vielle et Zeikus, 2001)

II.2.1.5 Autres enzymes thermostables

De nombreuses autres enzymes thermostables présentent un intérêt biotechnologique potentiel comme le montre **tableau 4 (Quérellou et Guezennec, 2010)**.

- L'alcool déshydrogénase : elle est utilisable dans les réductions énantiosélectives et oxydation des alcools secondaires.
- Les décarboxylases : elles catalysent la formation et le clivage des liaisons C—C ; réaction clé dans la production de blocs chiraux en synthèse de produits pharmaceutiques.
- Les cytochromes P450 oxydoréductases : transfert d'électron aux cathodes dans les piles à combustibles.
- Les hydroxylases aromatiques : production de composés phénoliques réactifs à partir de substances aromatiques.
- Les nitrilases : conversion de nitriles en acides carboxyliques

Chapitre II : Les potentialités biotechnologiques et industrielles des thermophiles

TABLEAU 4:EXEMPLES D'ENZYMES THERMOSTABLES ET LEURS APPLICATIONS

Enzyme	Application	Référence
Phytase	-Production de la farine animale	(Hassouni et al., 2006)
Pectinase	-Extraction des jus de fruits -Production de vin	(Vielle et Zeikus, 2001)
L-aminocyclase	-Production des acides amines -Bioconversion des intermédiaires pharmaceutiques	(Taylor et al., 2004).
Alcool déshydrogénase	-Biodégradation des composés halogéniques toxiques	(Little child et al., 2007)
γ lactamase	-Synthèse des agents chimio thérapeutiques appelés : Nucléosides carboxyliques utilisés dans les traitements des infections virales et comme vasodilateurs cardiaques	(Little child et al., 2007)
BamIB	-enzyme de restriction	(Larpen et Gourgaud, 1997)
Malto dixtrintransglucosidase	Utilisation dans les processus de conversion de l'amidon	(Raasch et al., 2002)
Phosphatase alcaline	La détection non isotopique	(Scriban, 1999)
Arabinose isomérase	-Additif intéressant dans le domaine agroalimentaire -Agent thérapeutique et préventif dans le domaine médical	(Bejar, 2006)

II.3 Biopolymères

Les biopolymères offrent sans nul doute de nombreuses opportunités en matière de nouveaux matériaux et/ou de propriétés physico-chimiques et biologiques nouvelles. Ces biopolymères bactériens présentent quelques atouts comme l'absence de dépendance vis-à-vis d'aléas climatiques, écologiques et politiques pouvant affecter la qualité, le coût et l'approvisionnement de leurs homologues extraits d'algues, de plantes ou d'animaux. Les possibilités d'agir sur les conditions de fermentation (sources de carbone, température, aération, pH, etc.) en vue d'optimiser la production, d'assurer la traçabilité, mais aussi de modifier le polymère produit, jouent également en faveur de la fermentation bactérienne. Deux types de biopolymères ressortent en termes d'applications biotechnologiques, les exo polysaccharides et les polyhydroxyalcanoates.

II.3.1 Les exo polysaccharides

Initialement dominé par les gommages d'origine végétale et algale, le marché s'ouvre également aux polysaccharides bactériens. En milieu marin, cette production semble être majoritairement le fait de souches appartenant aux genres *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Shewanella* et *Vibrio*. Certaines souches de ces espèces isolées à partir des grands fonds marins possèdent des propriétés uniques. Chez les bactéries, ces polysaccharides sont présents au niveau de la paroi cellulaire, constituants essentiels des lipopolysaccharides (LPS), à l'extérieur de la cellule, soit liés à cette même cellule (polysaccharide capsulaire) ou relargués dans le milieu de culture sous forme d'exo polysaccharides (EPS). Dans la nature, ces exo polysaccharides remplissent plusieurs fonctions, celles d'une barrière physique favorisant la lutte contre la phagocytose ou encore contre la dessiccation, une réponse à un stress environnemental, ou encore une fonction essentielle dans les processus d'interactions et reconnaissances cellulaires. Mais surtout, et parmi les mieux décrites, il y a celle d'assurer la fixation irréversible des micro-organismes sur les surfaces exposées en milieu naturel et de favoriser, en concentrant et piégeant la matière organique et les oligo-éléments nécessaires à la croissance de ces bactéries, la formation d'un voile biologique (ou biofilm) (Quéréllou et Guezennec, 2010).

Agir sur les conditions de fermentation ou encore sur le matériel génétique des micro-organismes constituent des axes de recherche aux quels vient naturellement s'ajouter celui de

la découverte de nouveaux micro-organismes capables de synthétiser ces polysaccharides. La seconde approche apparaît encore incertaine tant la biosynthèse des EPS est la résultante d'un processus complexe impliquant un grand nombre d'enzymes parfois très spécifiques de la seule synthèse de ces macromolécules. (Quéréllou et Guezennec, 2010).

Plus de 30 exos polysaccharides présentant des propriétés intéressantes ont été mis en évidence depuis la découverte des sources hydrothermales. Mais les résultats les plus marquants restent la détermination de structures polysaccharidiques complexes (linéaires et multi ramifiées), la caractérisation de sucres originaux mais surtout la synthèse d'un polysaccharide présentant de fortes similitudes de structure avec l'acide hyaluronique. Ce nouveau polysaccharide linéaire bactérien dont l'unité répétitive est composée de 3 sucres (N-acétyl glucosamine, N-acétyl galactosamine et acide glucuronique) dans un rapport molaire possède des propriétés intéressantes en termes de régénérations osseuse et dermique, laissant entrevoir un développement dans le domaine des biomatériaux. Les mécanismes d'action de ce polymère, y compris son effet systémique, sont encore mal connus même si le rôle des protéoglycanes et de polysaccharides dans le contrôle de certaines cytokines comme les facteurs de croissance et l'interféron-gamma par qu'inopexie (potentialisation de l'activité, régulation de la biodisponibilité et de la stabilité) est quant à lui accepté. (Quéréllou et Guezennec, 2010).

II.3.2 Polyhydroxyalcanoates (PHA)

Seuls les polyhydroxyalcanoates (PHA) bactériens doivent être considérés comme des biopolymères biodégradables. Ces biopolymères sont accumulés au sein des cellules bactériennes sous forme de granules lorsqu'un nutriment nécessaire à la croissance bactérienne devient limitant en présence d'un excès de substrat carboné. Les propriétés physico-chimiques des PHA dépendent de leur composition chimique, elle-même influencée par la nature de la source carbonée utilisée pour la croissance des bactéries et la synthèse de PHA, ce qui offre une large gamme de produits couvrant de nombreux domaines d'application : l'environnement (emballages biodégradables, films...), les produits d'hygiène, agriculture et horticulture, la chimie (synthèse, adhésifs, résines, encres...), la cosmétologie, l'industrie automobile et le secteur médical, notamment en tant que biomatériaux utilisés pour la réalisation de sutures, de prothèses, ou la synthèse de nouveaux médicaments et pour la

délivrance contrôlée de médicaments et de produits actifs. Selon les applications recherchées, ces biopolymères peuvent alors être considérés à l'état natif ou après modifications chimiques (époxy dation, ajouts de groupements hydrophiles ou hydrophobes, réticulation, fonctionnalisation, carboxylation, etc.). Toutes ces possibilités de modifications élargissent de manière très significative les champs d'applications de ces biopolymères. (**Quérellou et Guezennec, 2010**).

II.4 Applications industrielles

La microbiologie industrielle partie intégrante des biotechnologies est un secteur et un enjeu important de l'économie mondiale. Les microorganismes utilisés industriellement appartiennent essentiellement à quatre groupes, bactéries, actinomycètes, levures et moisissures. Les capacités de synthèse des microorganismes ne sont pas réservées aux seules industries alimentaires et pharmaceutiques, les microorganismes sont également susceptibles de produire des matières premières ou des substances chimiques industrielles directement utilisables. (**Leduc-Lebaleur, 1991**).

II.4.1 Production d'éthanol

Les microorganismes thermophiles sont intéressants dans la production d'éthanol car la production est forte, la biomasse faible, la fermentation est rapide, les dangers de la contamination sont supprimés, les produits volatils peuvent se distiller en continu partir du fermenteur, le refroidissement n'est plus facile. Parmi ces microorganismes : *Clostridium thermohydrosulfuricum*, *Thermoanaerobium brockii*, *Thermoanaerobacter ethanolicus* (**Larpent et Gourgaud, 1985**).

II.4.2 Production des biogaz

La fermentation thermophile permet une production élevée des biogaz par tonne de déchets traités et peut atteindre des cadences de chargement significativement plus élevées. La valeur ajoutée d'un fonctionnement à une température de 50°C réside dans le fait que des agents pathogènes humains sont détruits à ces températures ce qui améliore l'hygiène, et parmi les communautés microbiennes thermophiles responsables de cette décomposition, les thermotogales qui peuvent produire une grande quantité d'H₂ à partir des déchets agricoles à une température élevée, sous pression atmosphérique et avec un faible taux d'oxygène (**De Baere, 2005**).

II.4.3 Extraction du pétrole

Certaines bactéries thermophiles tel que *Geobacillus pallidus*, *Brevibacillus thermoruber* *stearothermophilus* ont la particularité de produire des détergents naturels parfaitement biodégradables capables de libérer le pétrole des interstices et des cavités après injection d'eau ou de gaz dans les puits. (Sayadi, 2006).

II.4.4 Traitement des eaux usées

La fermentation dans un réacteur fermé appelé fermenteur en présence des bactéries méthanogènes thermophiles à une température de l'ordre de 60 °C est utilisée pour le traitement anaérobie des eaux usées urbaines ou industrielles.

II.5 Les avantages de l'utilisation des thermophiles dans l'industrie et la biotechnologie

L'utilisation des thermophiles en biotechnologie et en industrie présente plusieurs avantages

- Une température élevée augmente la biodisponibilité et la solubilité des composés organiques ce qui entraîne une augmentation du taux de production, ainsi qu'une ionisation de certains substrats ou produits. (Scriban, 1999).
- L'utilisation des thermophiles est aussi avantageuse grâce la réduction des coûts de à refroidissement après stérilisation du milieu et elle permet en particulier la transformation stéréochimique sélective des composés insolubles à basse température. (Scriban, 1999).
- La facilité de leur isolement et de leur culture, la variété d'habitat, la réduction des risques de contamination, les besoins nutritionnels simples et la rapidité de croissance. (Maheshwari et al, 2000).

Matériel et Méthodes

Le présent travail a été réalisé durant la période de Février à Mai 2024 au niveau du laboratoire pédagogique de Microbiologie générale au sein de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Constantine 1.

III.1 Description du site d'échantillonnage

La source thermale de Béni Guecha, dans la wilaya de Mila, appartient aux sources des régions Nord-Sétifiennes, connue depuis l'époque romaine. Elle est située à 30 Km à l'ouest de Mila. Appelée aussi les thermes du rocher rouge à cause de sa richesse en fer qui forme des dépôts de tufs de couleur rouge-brique. Elle est située dans la commune de Yahia Béni Guecha (localisée à Latitude 36°23'32" Nord 5°59'32" et longitude Est), la Daïra de Ferdjioua (**voir figure 3**).

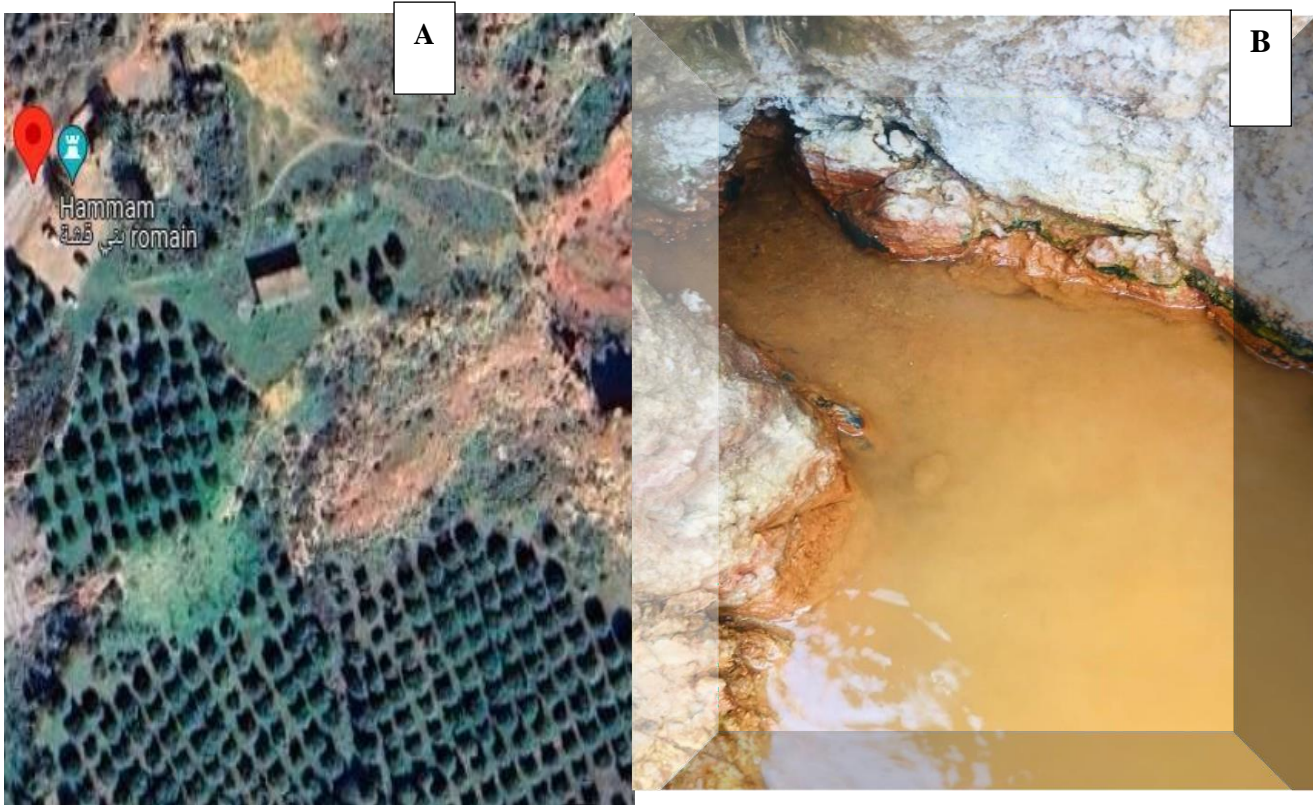


FIGURE 3 A) ZONE DE PRELEVEMENT, (B) SOURCE THERMALE DE BENI GUECHA

III.2 Echantillonnage

Les échantillons d'eaux ont été prélevés entre Février et le mois de Mars Mai 2024 à partir d'une seule source thermale de Béni Guecha (Ferdjioua). Nous avons utilisé la méthode de prélèvement manuelle qui consiste à plonger directement le récipient de prélèvement sur une profondeur de 15 cm de la surface. Des mesures in situ de la température et du pH sont réalisées, respectivement à l'aide d'un pH mètre portable de type HANNA (HI8424) (voir figure 4). Les échantillons ont été transportés dans une glacière à 4°C. Toute la partie expérimentale a été effectuée au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université Mentouri-Constantine 1.



FIGURE 4 : PHOTOGRAPHIES DES ECHANTILLONS

III.3 Isolement, purification et conservation des isolats

L'isolement des souches a été effectué sur trois milieux de culture différents. La GN, le milieu TSA et un milieu naturel. Les milieux GN et TSA sont des milieux non sélectifs. Un troisième milieu est naturel préparé avec l'eau de la source thermale, 7,5g/l de casa aminoacide, 10g/l d'extrait de levure, 20g/l d'agar. L'incubation est faite à 55°C. L'isolement est effectué par étalement de 0,1 ml de l'échantillon dans les boîtes de pétri. L'incubation des boîtes de Pétri a lieu pendant 48 heures à 72 heures. De chaque milieu quelques colonies d'aspect différent ont été prélevées et purifiées par repiquages successifs sur les mêmes milieux solides. Les souches pures sont conservées à 4°C.

III.3.1 Les milieux de cultures utilisés

➤ Milieu naturel

Nous l'avons préparé à base d'eau de source. En effet, 1 litre a été utilisé comme diluant dans lequel on a ajouté 7,5g /l de casa aminoacides, 10 g/l d'extrait de levure. Ensuite nous avons ajouté 20g/l d'agar bactériologique pour obtenir le milieu solide. Après l'homogénéisation, la stérilisation est faite à l'autoclave (121°C) pendant 20 minutes.

- **Milieu GN est** un milieu de culture microbienne très favorable à la croissance bactérienne, Le pH de la GN est de 7,2
- **Le milieu TSA** est un milieu de culture couramment utilisé en microbiologie pour la croissance et l'isolement d'une large gamme de bactéries. **La figure 5** montre les milieux de cultures utilisés dans notre étude.



FIGURE 5 : PHOTOS DES MILIEUX UTILISES

III .4 Identification

III 4.1 Etude Macroscopique

Observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification Thomas et al. (1970). Les éléments d'identification macroscopiques sont :

- La forme des colonies
- La taille des colonies par la mesure du diamètre
- Couleur de la colonie.
- L'élévation de la colonie
- Son opacité
- La surface : lisse, rugueuse, sèche, dentelée (Thomas et al. (1970)).

III.4.2 Examen microscopique

III 4.2.1 La coloration de Gram

➤ Préparation du Frottis :

Une goutte de suspension bactérienne prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur a été déposée sur une lame porte-objet propre. La goutte a ensuite été étalée uniformément sur toute la surface de la lame, soit par des mouvements circulaires, soit par des mouvements de va-et-vient. Une fois la lame séchée à l'air libre, elle a été saisie avec une pince stérile et passée à plusieurs reprises dans la flamme bleue d'un bec Bunsen. Cette étape de flambage a permis de fixer le frottis bactérien sur la lame.

- **Coloration primaire** : sur frottis fixé, la lame a été recouverte de violet de Gentiane pendant 1 minute. Puis le violet de Gentiane a été rincé avec l'eau distillée stérile.
- **Mordantage** : la lame a été recouverte de Lugol pendant 1 minute. Puis la lame a été rincée avec de l'eau distillée.
- **Décoloration** : la lame a été décolorée à l'alcool jusqu'à ce qu'elle devienne claire. Puis rincée avec de l'eau distillée.
- **Coloration secondaire** : la lame a été recouverte de Fuchsine pendant 30 secondes à 1 minute puis rincée à l'eau distillée et séchée en utilisant papier absorbant.

L'observation s'est réalisée après la mise d'une goutte d'huile d'immersion sur le frottis, à l'objectif x100. Ainsi, les bactéries à Gram positif apparaîtront colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

III.5 Recherches des enzymes respiratoires

III.5.1 La catalase

➤ Principe

La catalase est une enzyme qui permet d'éliminer le peroxyde d'hydrogène, qui est un composé très toxique chez les bactéries, en eau et en oxygène. Ainsi ce test permet de mettre en évidence la présence de la catalase chez une espèce bactérienne.

➤ La technique

Une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes est déposée sur une lame de verre. A l'aide d'une pipette Pasteur effilée, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée et déposée sur la goutte d'eau oxygénée. La présence de catalase se manifeste par la formation de bulles d'oxygène dans les secondes qui suivent le contact. Et dans le cas contraire la bactérie est dite catalase négative (**Gerhardt et al., 1994**).

III.5.2 Mannitol mobilité

Ce milieu permet la mise en évidence de la fermentation du mannitol, la mobilité de la souche et la recherche de la nitrate réductase.

➤ Principe

Les bactéries mobiles peuvent se déplacer librement dans la gélose semi-molle, ce qui leur permet de former un halo autour de la piqûre centrale. On peut savoir si la bactérie utilise le mannitol grâce à un indicateur de pH appelé rouge de phénol. L'utilisation du mannitol acidifie le milieu qui peut ainsi être révélé par le virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide (jaune). La présence de nitrate de potassium permet la recherche de la nitrate réductase.

➤ **Technique d'ensemencement**

Il faut ensemencer le milieu mannitol Mannitol-Mobilité est réalisée par pique centrale à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ensuite en incubé à 55°C pendant 48 à 72 h.

➤ **Lecture**

Si le milieu vire du rouge vers le jaune, cela prouve que la bactérie a fermenté le mannitol, produisant des acides qui font virer l'indicateur pH du milieu vers le jaune (réaction positive). Elle est considérée comme négative si le milieu ne change pas de couleur.

III.5.3 Caractérisation biochimique par la galerie Api 20 E

➤ **Principe**

La galerie Api 20 E est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Galerie API (analytical profile index) est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques, exploitable avec des bases de données d'identification complètes dont la plus connue est l'api 20E (20 caractères pour les entérobactéries), commercialisé par la société Française « BIOMERIEUX. »

➤ **Composition de la galerie**

➤ **Les tubes**

Ils sont conçus de façon à permettre deux zones, une zone aérobie (cupule) et une zone anaérobie (tube proprement dit), la zone aérobie permettant le remplissage. Le milieu de culture est contenu dans le micro tube sous forme déshydratée. Sa réhydratation est assurée par l'inoculum. Deux types de remplissage sont possibles :

* Ne remplir que le tube proprement dit (le fond). On peut alors « fermer » le tube par addition de vaseline stérile dans la cupule ou non.

* Remplir tube et cupule.

Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la micro galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs. Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries. On peut utiliser la galerie API 20 E pour l'identification des bactéries du genre *Bacillus*. Elle comprend 20 tests biochimiques.

➤ **Technique**

Préparation de la galerie

- ❖ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- ❖ Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- ❖ Ouvrir une ampoule de Suspension Medium (ou un tube d'eau distillée stérile)
- ❖ Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- ❖ Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle Mc Ferland)

Inoculation de la galerie

- ❖ Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne. Remplir uniquement les tubes des autres tests. Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂SH₂S en remplissant leur Cupule d'huile de vaseline. La lecture de la galerie est récapitulée dans **le tableau 5** ci-dessous.

Il faut noter que pour la lecture de notre galerie api 20^E nous avons fait recours à un logiciel qui s'appelle UPBM api le lab. dont le lien est le suivant : (<https://lab.upbm.org/>). C'est un logiciel assez pratique pour la lecture de la galerie api 20^E car il permet d'obtenir efficacement l'identité du microorganisme avec son pourcentage d'identification. **La figure 5** ci-dessous montre le site en question.

UPBM le Lab' | Accueil | Site de l'UPBM | A propos du Lab' | Contact | Ressources 12

Bienvenue sur le service UPBM le Lab'

L'UPBM met ici gracieusement à disposition des outils numériques à destination des sections biotechnologiques. Elle publie également des annales corrigées pour les élèves et étudiants, et propose pour les enseignants une série de ressources variées (banque de séquences pédagogiques, trimestriel, liste de discussion...).

[Découvrir l'UPBM](#)

Vous êtes enseignant en biotech en France et vous appréciez ces services ? Vous souhaitez rejoindre notre communauté et accéder à de nombreuses autres ressources ? Rejoignez-nous et adhérez à l'UPBM !

[Rejoindre l'UPBM](#)

Outils les plus demandés :

- [Identifieur "api"](#)
- [Gamme étalon](#)

Derniers outils ajoutés :

- [Compteur de colonies](#)
- [PCR](#)























Publications :

- [BTS de Biotech](#)

Le site UPBM le Lab' utilise Bootstrap 4, optimisé pour IE10+, iOS7+, Android5.0+, FF et Chrome. Les autres navigateurs ne sont pas supportés, et risquent de produire des affichages imprévisibles : pour une meilleure expérience, utilisez alors une version à jour de Firefox ou de Chrome. L'icône  dans les menus indique un outil optimisé pour l'impression : vous pouvez imprimer le résultat pour votre rapport d'activité technologique. L'impression produisant des résultats aléatoires selon les configurations, utilisez la fonction avancée

FIGURE 6: Photo de l'interface du logiciel UPBM LE LAB API.

TABLEAU 5 : TABLEAU DE LA LECTURE DE LA GALERIE API 20E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E					
Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

III.6 Mise en évidence des enzymes extracellulaires

Pour tester l'activité enzymatique de ces bactéries thermophiles, quatre substrats à savoir l'amidon, la gélatine, le lait écrémé, et le Tween ont été utilisés. La mise en évidence de ces enzymes est réalisée chez les six isolats (S1, S2, S3, S4, S5, S6).

III 6.1 Détermination de l'activité amylolytique

La mise en évidence des enzymes amylolytiques a été déterminée sur un milieu gélose à l'amidon à 1 % (p / v). L'hydrolyse de l'amidon a été détectée en inondant les plaques avec une solution d'iode de Lugol. La zone claire autour de la colonie indique un résultat positif (Benammar et al., 2020).

III.6.2 Détermination de l'activité Estérases

On teste l'activité des estérases, des enzymes qui hydrolysent les esters en utilisant le même milieu d'isolement additionnée du Tween 80 comme substrat. Ce test permet de voir si les bactéries ou autres micro-organismes sont capables de dégrader le Tween (80 ou 20) (Benammar et al., 2020).

La composition du milieu est la suivante : $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2 g, KCl 4 g, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.1 g, NaCl 50 g, Tween (80 ou 20) 01 ml, extrait de levure 1 g, agar 15 g, eau distillé 1000 ml. Nous avons ensemencé les souches par stries. Après l'incubation, le développement d'un précipité autour des touches qui témoigne de l'activité d'estérase (Saidan et al., 2024).

III.6.3 Détermination de l'activité caséinolytique

L'activité protéolytique ou caséinolytique a été testée dans un milieu contenant du lait écrémé à 2 %. Le milieu de base est modifié par addition de 1% (p/v) de caséine. Après ensemencement, les souches testées sont incubées pendant 1 à 2 jours. Des zones claires et transparentes autour de la croissance ont été considérées comme une indication de la dégradation de l'activité de la caséine. (Guta et al., 2024).

III.6.4 Détermination de l'activité gélatinolytique

Le test d'hydrolyse de la gélatine a été réalisé selon la méthode de Frazier en utilisant de la gélose à base de gélatine à 2%. Après l'incubation, la dégradation de la gélatine était observée sous la forme d'une zone claire autour des colonies, dans la gélose quelque peu opaque.

Résultats et discussion

III.7 La physico-chimie de la source thermale de Beni Guecha

La température de l'eau de la source thermale de Beni Guecha est modérément élevée, elle atteint les 55°C. Cela peut être attribué à des flux géothermiques souterrains qui réchauffent l'eau avant qu'elle ne remonte à la surface. Nous pouvons classer notre source d'étude comme étant une eau thermale. Une source est dite thermale quand sa température dépasse celle de la zone de température constante. Une eau thermale est une eau souterraine dont la température est de 50 supérieures à la température moyenne des sources ordinaires, c'est-à-dire température moyenne du lieu, ou à la température de la zone à température constante du sol à altitude égale (**Angot, 2017**).

Le pH de cette eau est de 5,77, indiquant une légère acidité. Cette acidité peut être due à la présence de certains minéraux ou à des réactions chimiques dans l'environnement géologique. La composition chimique de la source thermale de « Beni Guecha » est très riche en minéraux, lui conférant les propriétés thérapeutiques indiquées pour les maladies rhumatismales, respiratoires et dermatologiques (**Gosselin Schoeler, 1939**)

III.8 L'isolement

Nous avons choisi la source thermale de Béni Guecha car aucune étude n'a été réalisée sur la microbiologie des eaux de la source, ce qui rend notre étude originale par rapport au site d'échantillonnage. Les résultats de l'isolement des colonies bactériennes contenues dans notre échantillon d'eau thermale sur les trois milieux utilisés sont mentionnés dans la **figure 7** ci-dessous.

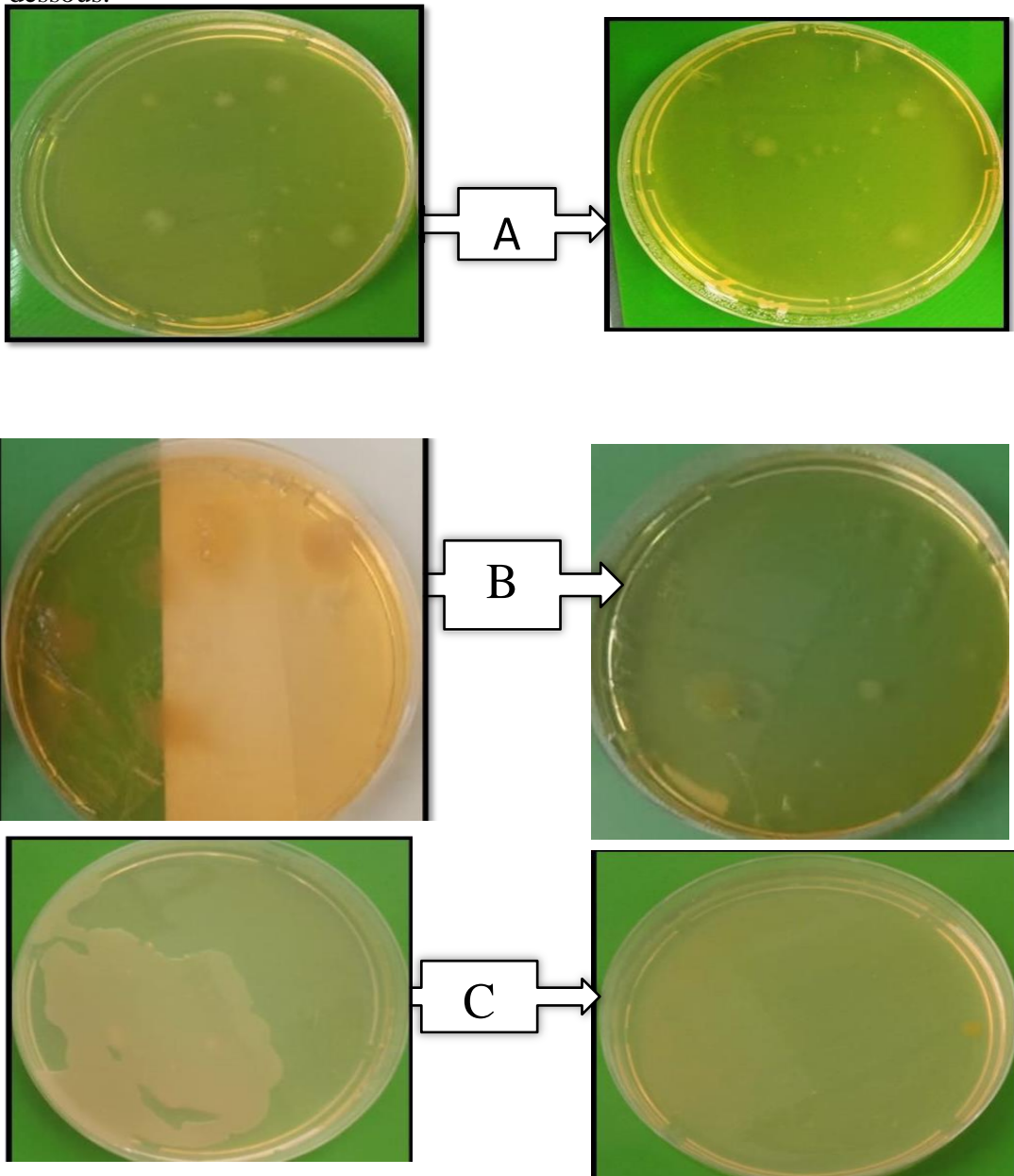


FIGURE 7: PHOTOS DES COLONIES ISOLEES SUR LES MILIEUX GN, TSA, MN
Page 40 sur 76

III.9 Purification

La purification est une étape indispensable avant d'identifier une bactérie. Elle permet d'obtenir des colonies bien séparées et isolées ce qui permet une identification, précise et correcte de la bactérie. Les photos ci-dessous montrent les résultats de la purification de quelques souches de nos bactéries thermophiles isolées de la source thermale de Beni Guecha sur les deux milieux de culture GN, TSA et MN.

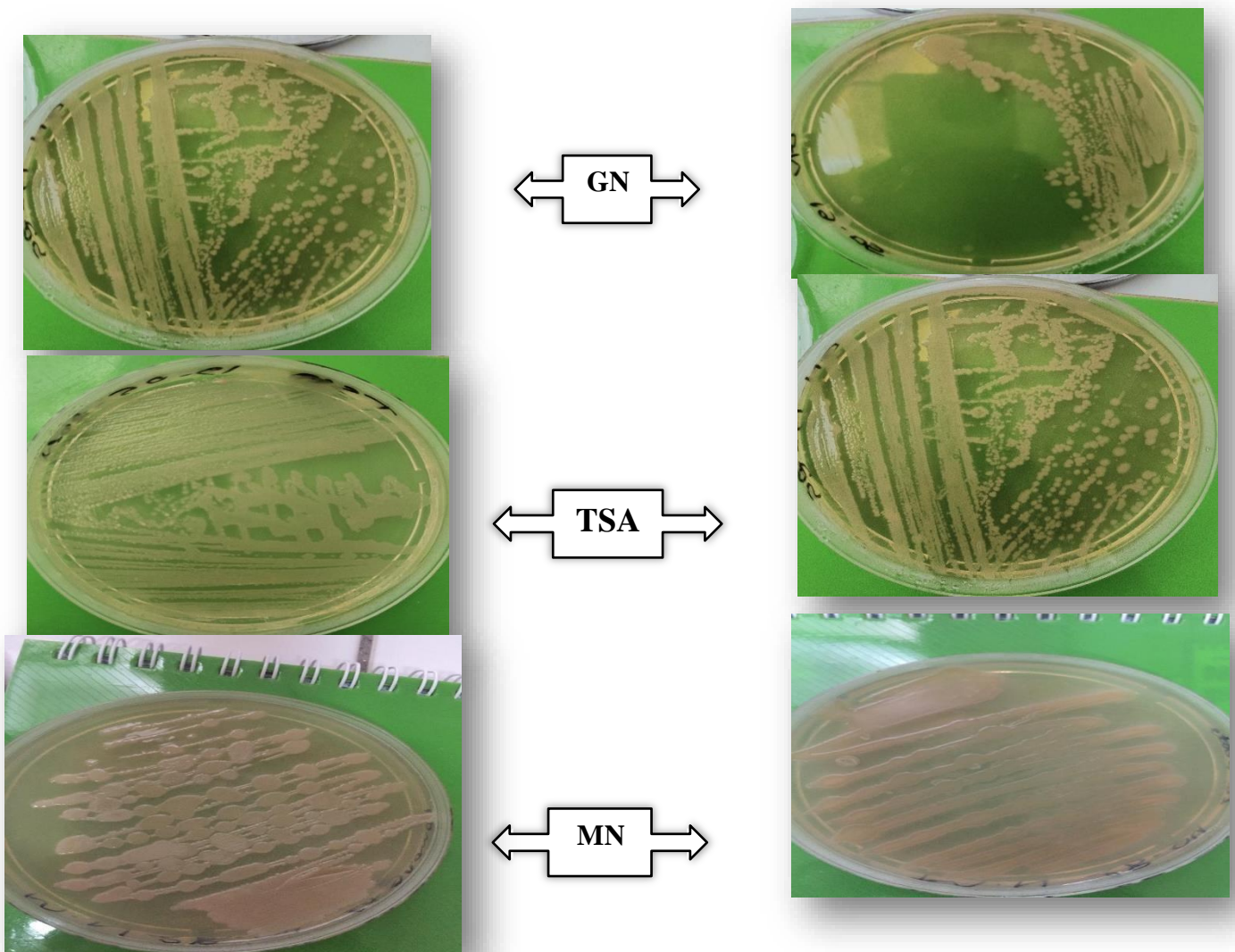


FIGURE 8: PHOTOGRAPHIES DE 6 SOUCHES ISOLEES DE LA SOURCE THERMALE DE BENI GUECHA APRES PURIFICATION

III.10 Identification

III 10.1 Identification macroscopique

Le résultat de l'examen macroscopique de nos bactéries thermophiles isolées et sélectionnées de la source thermale de Beni Guecha est mentionné dans **le tableau 1** ci-dessous.

Tableau 6 : Caractérisation des souches obtenues à partir des trois milieux

Boîtes	Lames	Formes	Gram+	Aspect	Consistance
Boite 1	Lame 1	Bacilles	-	Lisse	Crémeuse
	Lame 2	Bacilles	+	Lisse	Crémeuse
	Lame 3	Bacilles	+	Lisse	Crémeuse
Boite 2	Lame 4	Coccobacilles	-	Lisse	Crémeuse
	Lame 5	Bacilles	-	Lisse	Crémeuse
	Lame 6	Bacilles	-	Rugueuse	Crémeuse
Boite 3	Lame 7	Bacilles	-	Rugueuse	Crémeuse
	Lame 8	Bacilles	-	Lisse	Crémeuse
	Lame 9	Bacilles	+	Lisse	Crémeuse

III.10. 2 Identification microscopique

Les résultats des observations microscopiques réalisées à l'état frais et après coloration de Gram des Bactéries thermophiles sont mentionnés dans la **figure 9**.

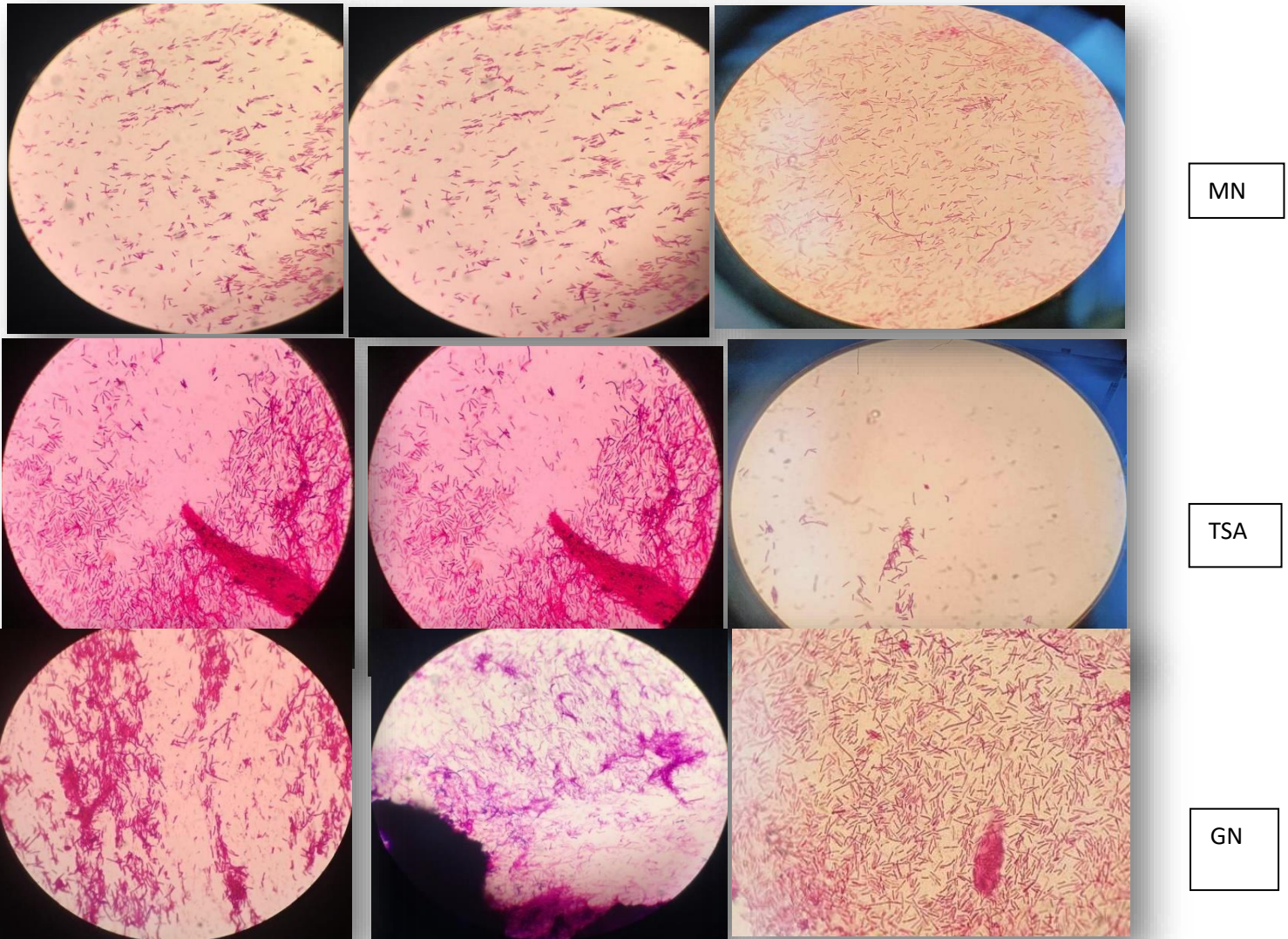


FIGURE 9 : ASPECTS MICROSCOPIQUES DES SOUCHES SELECTIONNEES ; OBSERVATION AU MICROSCOPE PHOTONIQUE ET A IMMERSION (X100).

III.11 Recherches des enzymes respiratoires

III.11.1 La catalase

Les résultats des souches des trois milieux utilisés sont mentionnés **dans la figure10** ci-dessous.



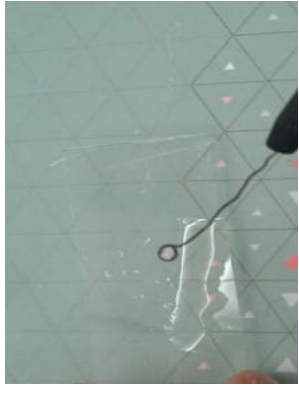
		
GN : Catalase positive (+)	TSA : Catalase positive (+)	MN : Catalase négative (-)

FIGURE 10 : RESULTATS DU TEST DE CATALASE

III.11.2 Le test mannitol mobilité

Un virage de l'indicateur au jaune n'a pas été observé, cela indique que les souches ne fermentent le mannitol (**figure 11**). Les trois isolats au niveau de trois milieux ne sont pas mobiles.



FIGURE 11 : RESULTAT DU TEST DE MANNITOL-MOBILIT

III.11.3 Résultats de la galerie plaque API 20^E

Nous précisons que la température d'incubation est de 37°C. Les résultats de la galerie API 20NE réalisée sur les bactéries thermophiles isolées de la source thermale de Béni Guecha sont mentionnés dans le **tableau 3** et la **figure 12**.



FIGURE 12 : GALERIE API 20E APPLIQUEE SUR LES MILIEUX GN, TSA ; MN

TABLEAU 7 : RESULTATS DE LA GALERIE API 20E DES SOUCHES ISOLEES

Souche	TSA	MN	GN
ONPG	-	-	-
ADH	+	+	+
LDC	-	-	-
ODC	+	-	+
CIT	-	-	-
H2S	-	-	-
URE	-	-	+
TDA	+	-	+
IND	-	-	-
VP	+	+	-
GEL	-	-	+
GLU	+	-	-
MAN	+	+	-
INO	+	-	-
SOR	+	-	-
RHA	+	-	-
SAC	+	-	-
MEL	+	+	-
AMY	+	+	-
ARA	+	+	-

III.12 Mise en évidence des enzymes extracellulaires

La présence de ces activités hydrolytiques a été testée en utilisant les substrats : amidon, caséine, tween 80, la gélatine. Nous avons testé ces activités enzymatiques au niveau de six isolats que nous avons. La production d'activités enzymatiques (amylolytique, lipolytique, protéolytique) n'a pas été observée chez aucun de ses six chez la plupart des isolats étudiés. Par contre l'activité de la caséinase et celle de la gélatinase ont été observées chez trois isolats (S1, S2, S3).

Les résultats sont mentionnés dans **le tableau 8** et **la figure 13** ci-dessous.

TABLEAU 8 : RESULTATS DES TESTS ENZYMATIQUES DES SOUCHES ISOLEES

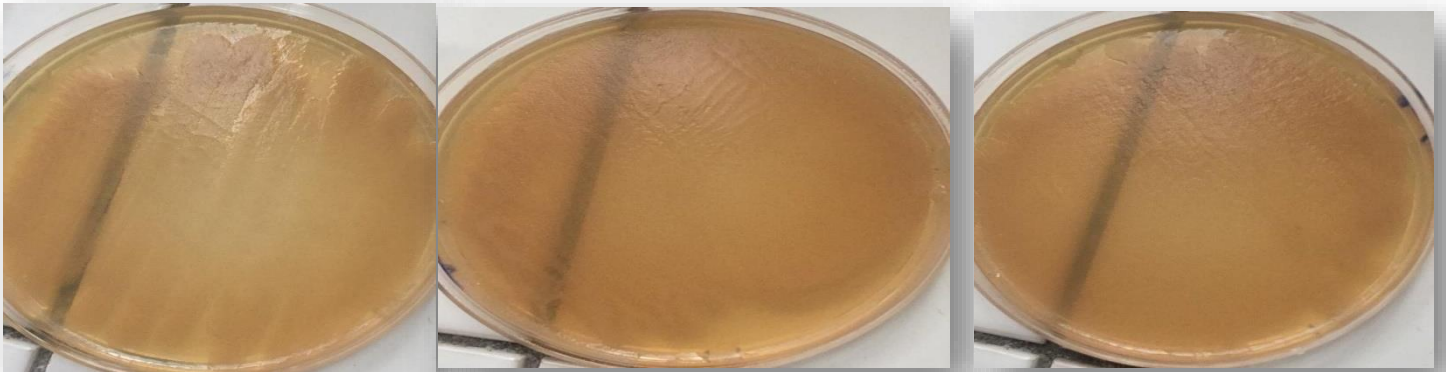
Souches	Amidon	La caséine	La gélatine	Tween 80
S1	-	+	+	-
S2	-	+	+	-
S3	-	+	+	-
S4	-	-	-	-
S5	-	-	-	-
S6	-	-	-	-

Remarque : (+) : hydrolyse complète et (-) : absence de l'hydrolyse

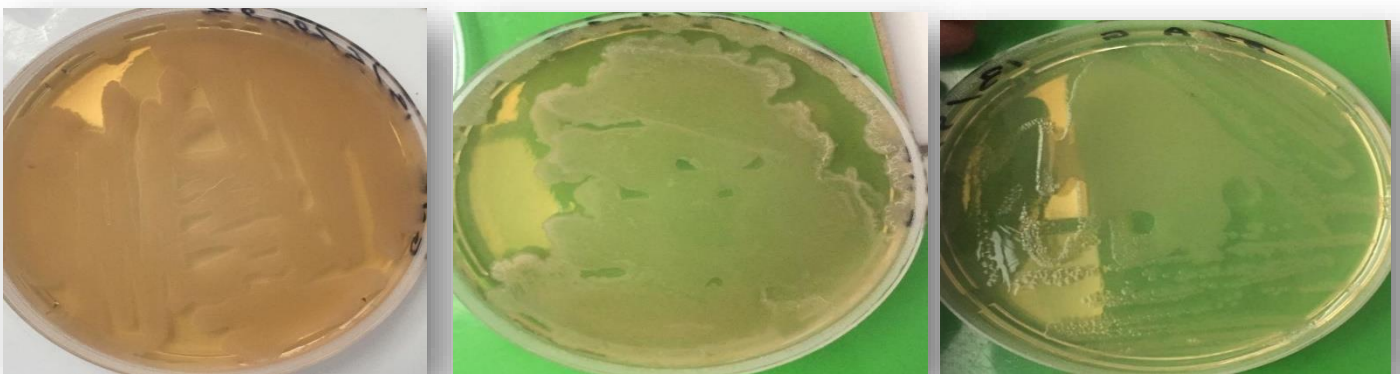
➤ Les photos de l'amylase



➤ Les photos du test de l'estérase



➤ Photos du test de gélatinase



➤ Photos du test de la caséine



FIGURE 13:PHOTOS DES BOITES APRES LES TESTS ENZYMATIQUES

Les résultats que nous avons obtenus dans cette étude mettent en lumière la riche diversité des bactéries thermophiles productrices d'enzymes présentes dans la source étudiée. L'utilisation de milieux de culture spécifiques et de techniques d'isolement adaptées nous ont permis de sélectionner quelques souches bactériennes présentant des caractéristiques morphologiques, physiologiques et enzymatiques distinctes. Nous avons découvert que ces bactéries ont une croissance optimale à 55°C ; tandis qu'à 40°C la croissance est assez faible. L'isolement nous a permis d'obtenir 6 souches pures après une série de repiquages successifs. Lors de l'observation au microscope la plupart de ces bactéries se sont révélées être principalement des bacilles à G+ G-. Les bactéries à G- possèdent une paroi mince et complexe qui ne garde pas la coloration violette mais prend la coloration rose avec le contre-coloration à la Fushine. En revanche, la paroi des bactéries à G+ retient la coloration violette.

Lors des tests biochimiques les résultats montrent que toutes les souches bactériennes étudiées possèdent au moins l'une des deux enzymes respiratoires recherchées (oxydase et catalase), il a été révélé que toutes les souches des milieux GN et TSA sont de type C catalase positive car chacune d'elles présente des bulles après le dépôt du peroxyde d'hydrogène H₂O₂. En outre celle du milieu naturel sont de catalase négative.

Les résultats des tests de la galerie api 20^E mentionnés dans le **tableau 3** nous ont permis d'identifier des bactéries du genre *Bacillus* dont entre autres *Bacillus megaterium*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus Badius*, *Geobacillus thermoglucosidasius*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus smitihii*, *Bacillus lentus*, *Paenibacillus glucanolyticus*. En effet, pour pouvoir identifier avec précision les noms de ces bactéries, nous avons utilisé un logiciel qui s'appelle galerie UPBM le labo api : (<https://lab.upbm.org/>). En rentrant dans ce lien vous allez voir tout juste en haut c'est écrit « **identifier api** qui est un logiciel d'identification microbienne en ligne, pour les galeries les plus courantes. Ce logiciel réalise un calcul de probabilité pour les caractères phénotypiques obtenus avec la micro galerie sélectionnée. Il permet une compréhension de l'approche statistique, grâce au mode pédagogique intégré. Sur le choix de la galerie, on a choisi api 20^E Bacillus-identification des Bacillus via l'api 20^E. Ensuite nous avons inséré les résultats de notre galerie api 20^E et en cliquant sur le calcul direct on obtient de façon automatique le genre *Bacillus* avec un pourcentage d'identification. C'est à travers cette méthode nous avons obtenus l'identité de ces bactéries avec chacune un pourcentage

d'identification. *Bacillus megaterium* avec un bon pourcentage d'identification de 76,3%, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus badius*, *Bacillus fusiformis*, avec un très bon pourcentage d'identification de 78,4%, *Geobacillus thermoglucosidasius* avec 59,3%, *Bacillus pumilus* 79%, *Bacillus smitihii* 60%, *Bacillus lentus* avec un excellent pourcentage de 97,8%, *Paenibacillus glucanolyticus* avec 99,9%. Pour plus d'illustration les résultats sont mentionnés sur **la figure 13**.

La fermentation du mannitol n'a pas été observée chez toutes nos souches. Aucun virage de l'indicateur au jaune n'a été noté. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'acidification produite par les bactéries aéro-anaérobies facultatives est en général insuffisante face à l'importance du pouvoir tampon du milieu (Joffin et Leyral, 2006).

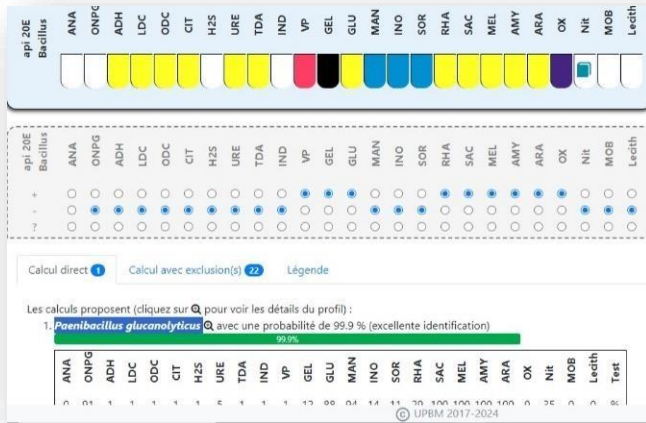
Quant à la mobilité il s'est avéré que toutes les souches sont immobiles.

Les activités protéolytiques, amylolytiques, gélatinolitiques, caséinolytiques et celle de l'estérase ont été mises en évidence en utilisant les milieux GN, TSA, MN au lait écrémé auxquels on a additionné respectivement, 1% amidon, 2% gélatine, 1% O,5%, 0,5% lait écrémé, 1% de tween 80.

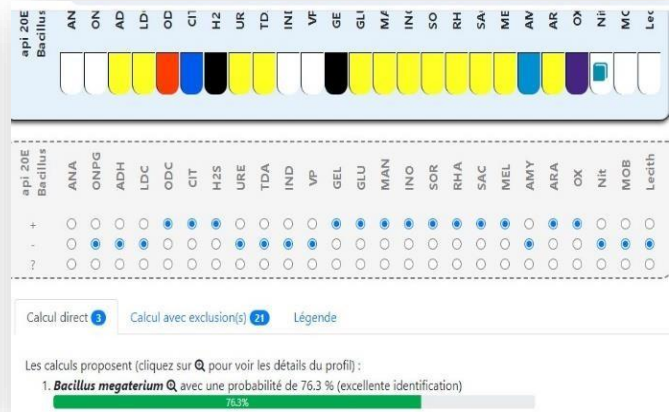
Les résultats du **tableau 4** montrent que les souches S1, S2, S3 hydrolysent la caséine et la gélatine. Cependant on remarque l'absence de l'activité amylolytique et celle de l'estérase chez toutes les six souches

Dans diverses études sur les eaux thermales, des valeurs de pH et de température similaires à celles obtenues dans notre étude ont été rapportées. Rupasinghe et coll a étudié six sources d'eaux thermales au Sri Lanka ; ils ont signalé des valeurs de pH comprises entre 6,25 et 8,35, donc classées comme acides et alcalines, et une plage de température de 39 à 59 °C. Chan et coll. analysé diverses sources d'eau thermale en Malaisie : Semenyih, avec une plage de température de 40 à 50 °C et un pH de 6,9 ; Ayer Hangast, avec des températures comprises entre 40 et 50 °C et un pH neutre de 7,1 (Ulucay et al., 2022).

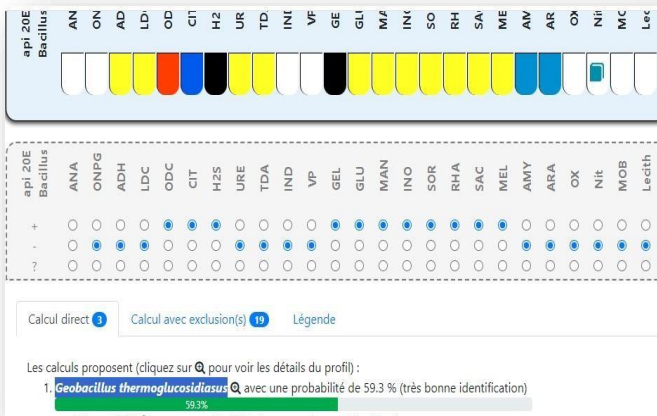
C'est le aussi des travaux réalisés par Godfrey et ses collaborateurs (1996). Les colonies observées présentent majoritairement un aspect microscopique typique du genre *Bacillus*. C'est également le cas d'une autre étude similaire à la nôtre au cours de laquelle le genre *Bacillus* a été isolé de tous les échantillons ; sa présence est due à leur résistance aux conditions environnementales difficiles en plus de son adaptation aux environnements chauds (Kawasaki et al., 2012 ; Annizet al., 2015). Les souches appartenant au genre *Bacillus* ont été dominantes dans les études menées par différents chercheurs à travers le monde. Aanniz et al. (2015) ont récupéré 97,5% des souches appartenant à ce genre isolé des sources thermales marocaines (Mohammad et al., 2017).



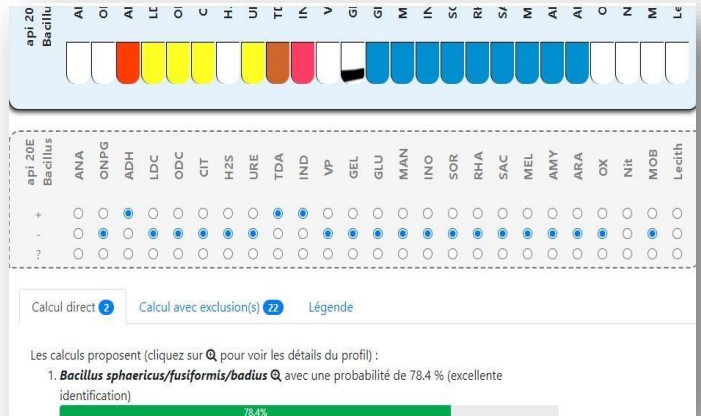
1. *Paenibacillus glucanolyticus*



2. *Bacillus megaterium*



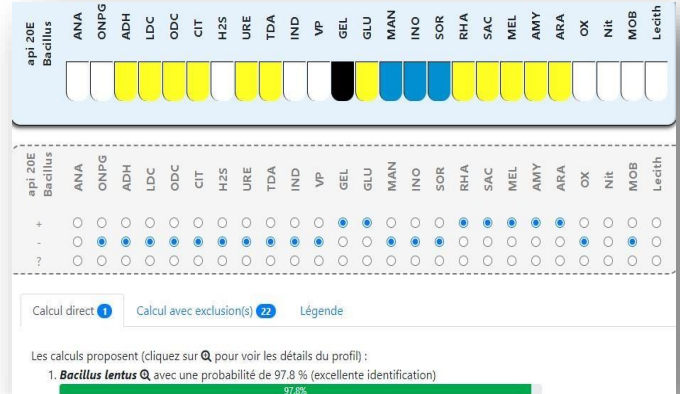
3. *Geobacillus thermoglucosidasius*



4. *Bacillus sphaericus/fusiformis/badius*



Bacillus pumilus



Bacillus

FIGURE 13: LES NOMS DES BACTERIES AVEC LEURS POURCENTAGES D'IDENTIFICATION

Conclusion générale et perspectives

Les bactéries thermophiles occupent, de plus en plus, une place importante dans la biotechnologie moderne en raison de leur potentiel à produire des biomolécules hautement stables. C'est pourquoi leur isolement à partir des sources chaudes et leur identification font l'objet d'étude d'intenses recherches.

Les résultats de notre étude ont mis en relief différentes activités enzymatiques extracellulaires des souches bactériennes isolées de la source thermale de Beni Guecha.

Six souches ont été isolées à 55 °C sur les trois milieux solides, elles ont subi une caractérisation phénotypique et physiologique et des tests biochimiques. Les résultats ont montré que ce sont thermophiles modérés facultatifs, immobiles, et la plupart sont des bacilles Gram négatif et ces derniers présentent deux genres *Bacillus* et *Geobacillus* avec dominance du genre *Bacillus*.

Quatre hydrolases ont été mises en évidence (amylases, caséinase, estérase et gélatinase) sur les mêmes milieux d'isolement additionné respectivement de l'amidon, lait écrémé, Tween 80 et de la gélatine. Une faible activité de caséinolytique et gélatinolytique a été enregistrée chez la majorité des souches isolées.

En fin ce travail a permis l'exploitation d'un biotope extrême (Hammam Beni Guecha). Ce Hammam abrite une micro flore particulière possédant un optimum de température de 45 à 55 °C. Les thermophiles possèdent des activités intéressantes pour la bio-industrie et pour la dépollution des eaux thermales attendant une étude détaillée des isolats pour renforcer leur potentiel, une optimisation supplémentaire des paramètres de croissance pour une activité enzymatique extracellulaire optimale peut être réalisée, leurs gènes peuvent être identifiés et clonés pour produire des enzymes recombinantes et ensuite utilisé pour la production industrielle.

Références bibliographiques

- Adiguzel, A., Ozkan, H., Baris, O., Inan, K., Gulluce, M., & Sahin, F. (2009). Identification and characterization of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Turkey. *Journal of microbiological methods*, 79(3), 321-328.
- Akmar, H. N., Asma, I., Venugopal, B., Latha, L. Y., & Sasidharan, S. (2011). Identification of appropriate sample and culture method for isolation of new thermophilic bacteria from hot spring. *African Journal of Microbiology Research*, 5(3), 217-221.
- Angot, L. A. (2017). *HISTORIQUE, TOPOGRAPHIQUE ET BIOGRAPHIQUE DE LA MAYENNE*.
- Benammar, L., İnan Bektaş, K., Menasria, T., Beldüz, A. O., Güler, H. I., Bedaida, I. K., Gonzalez, J. M., & Ayachi, A. (2020). Diversity and enzymatic potential of thermophilic bacteria associated with terrestrial hot springs in Algeria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(4), 1987-2007. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00376-0>
- Bosecker, K. (1997). Bioleaching : Metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 20(3-4), 591-604. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1997.tb00340.x>
- Bosecker, K. (1997). Bioleaching : Metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 20(3-4), 591-604. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1997.tb00340.x>.
- De Baere, L. (2005). La technologie DRANCO : Une technologie unique de digestion anaérobie des déchets organiques solides. OrganicWasteSystemsOWS,(Belgique).http://www.ows.be/pages/index.php?menu=89&submenu=145&choose_ = lang FR.
- Friedrich, A.B. and Antranikian, G. (1996). keratin dégradation by *Fervidobacterium pennavorans*, a navel thermophilic anaerobic species of the order Thermotogales. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 : 2875-2882.
- Gupta, R. and Ramnani, P. (2005). Microbial kéeratinases and their prospective application: an overview. *Appl. Microbial. Biotechnol.*70: 21-33.

Références bibliographiques

- Guta, M., Abebe, G., Bacha, K., & Cools, P. (2024b). Screening and characterization of thermostable enzyme-producing bacteria from selected hot springs of Ethiopia. *Microbiology Spectrum*, 12(3), e03710-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03710-23>
- Haki, G.D. and Rakshit, S.K. (2003). Developments in industrially important thermostable enzymes. *Bioresour. Technol.* 89 : 17-34.
 - Ibtissam, A. et 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.
 - Jensenet, B. and Olsen, J. (1992). Physicochemical properties of a purified alpha Thermomyces lanuginosus. *Enz. Microb. Amylase from the thermophilic fungus Technol.* 14 : 112-116
 - Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., & Kot, A. M. (2021). Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules*, 26(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>.
 - Kanekar, P. P., & Kanekar, S. P. (2022). *Diversity and Biotechnology of Extremophilic Microorganisms from India*. Springer Nature Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-19-1573-4>
 - Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., & Kot, A. M. (2021). Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules*, 26(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
 - Liu, C.-M., Song, S.-R., Chen, Y.-L., & Tsao, S. (2011). Characteristics and Origins of Hot Springs in the Tatun Volcano Group in Northern Taiwan. *Terrestrial, Atmospheric and Oceanic Sciences*, 22(5), 475. [https://doi.org/10.3319/TAO.2011.05.25.01\(TT\)](https://doi.org/10.3319/TAO.2011.05.25.01(TT))
 - Leduc-Leballeur, C. (1991). Les bactéries de l'extrême : une nouvelle voie de recherche sur les formes de vie les plus primitives. *Oriston Actualité* N° 33 (Paris).
 - Mamo, G., Gash, B.A. and Gessesse, A. (1999). A highly thermostable amylase *Bacillus* sp. Wn 11. *J. Appl. Microbiol* 86 : from a newly isolated thermophilic 557-560

Références bibliographiques

- Mamo, G., Gash, B.A. and Gessesse, A. (1999). A highly thermostable amylase *Bacillus* sp. Wn 11. *J. Appl. Microbiol* 86 : from a newly isolated thermophilic 557-560.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J. (2003). *Braek biology of edition*. Pearson education, INC (USA).
- Maheshwari, R., Bharadwaj, G. And Bhat, M.K. (2000). Thermophilic fungi : their Maheshwari physiology and enzymes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64 : 488- 561.
- Mótyán, J. A., Tóth, F., & Tózsér, J. (2013). Research Applications of Proteolytic Enzymes in Molecular Biology. *Biomolecules*, 3(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/biom3040923>
- Mehta, D., & Satyanarayana, T. (2013a). Diversity of Hot Environments and Thermophilic Microbes. In T. Satyanarayana, J. Littlechild, & Y. Kawarabayasi (Éds.), *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology : Biotechnology of Thermophiles* (p. 3-60). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5899-5_1
- Mehta, D., & Satyanarayana, T. (2013b). Diversity of Hot Environments and Thermophilic Microbes. In T. Satyanarayana, J. Littlechild, & Y. Kawarabayasi (Éds.), *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology : Biotechnology of Thermophiles* (p. 3-60). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5899-5_1
- Mehta, D., & Satyanarayana, T. (2013c). Diversity of Hot Environments and Thermophilic Microbes. In T. Satyanarayana, J. Littlechild, & Y. Kawarabayasi (Éds.), *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology : Biotechnology of Thermophiles* (p. 3-60). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5899-5_1
- Mohammad, B. T., Al Daghistani, H. I., Jaouani, A., Abdel-Latif, S., & Kennes, C. (2017). Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Jordanian Hot Springs : *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* Isolates as Potential

Références bibliographiques

- Producers of Thermostable Enzymes. *International Journal of Microbiology*, 2017, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2017/6943952>
 - Porowski, A. (2018). Mineral and Thermal Waters. In R. A. Meyers (Éd.), *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology* (p. 1-35). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2493-6_978-1
 - Quérellou, J., & Guezennec, J. (2010). Biotechnologie des extrêmophiles. *Bioprocédés et bioproductions*. <https://doi.org/10.51257/a-v1-bio580>
 - Sadeepa, H. D. D., Sirisena, K. A., & Manage, P. M. (2024a). Assessment of Microbial Diversity in Hot Springs for Sustainable Industrial Applications. In *Microbial Diversity in the Genomic Era* (p. 263-279). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13320-6.00012-3>
 - Sadeepa, H. D. D., Sirisena, K. A., & Manage, P. M. (2024b). Assessment of Microbial Diversity in Hot Springs for Sustainable Industrial Applications. In *Microbial Diversity in the Genomic Era* (p. 263-279). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13320-6.00012-3>
 - Saidan, S. A., Jarboui, R., Alsharari, S. S., & Azab, M. S. (2024). Characterization and Identification of Thermophilic Bacteria Isolated from Different Sites Located in Al-Jouf Region, Saudi Arabia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 18(1), 243-256. <https://doi.org/10.22207/JPAM.18.1.07>
- Satyanarayana, T., Littlechild, J., & Kawarabayasi, Y. (Éds.). (2013). *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5899>
- Tiwar, S., Srivastava, R., Singh, C., Shukla, K., Singh, R., Singh, P., Singh, R., Singh, N., & Sharma, R. (2015). *AMYLASES : AN OVERVIEW WITH SPECIAL REFERENCE TO ALPHA AMYLASE. 4.*

Références bibliographiques

- Ulucay, O., Gormez, A., & Ozic, C. (2022a). Identification, characterization and hydrolase producing performance of thermophilic bacteria : Geothermal hot springs in the Eastern and Southeastern Anatolia Regions of Turkey. *Antonie van Leeuwenhoek*, 115(2), 253-270. <https://doi.org/10.1007/s10482-021-01678-5>
- Uma Maheswar Rao, J.L. and Satyanarayana, T. (2003). Enhanced secretion and 2 low temperature stabilization of a hyperthermostable and Ca independent + Geobacillus thermoleovorans of by surfactants Lett. Appl. Microbiol. a. amylase 36 : 131-196.
- Vielle, C. and Zeikus, J. (2001). Hyperthermophilic Enzymes : sources, uses and 65 : 1-43. Molecular mechanisms for thermostability. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*

Annexes

Annexe

Matériel non biologique

- ❖ Autoclave (WEBECO Allemagne)
- ❖ Etuve (BINDER Allemagne)
- ❖ Bain marie (MEMMERT Allemagne)
- ❖ Agitateur chauffant a barreau magnétique (GARHARDT Allemagne)
- ❖ Balance (KERN 770 Allemagne)
- ❖ Réfrigérateur (ENIEM Algérie)
- ❖ Microscope photonique
- ❖ Bec bunsen
- ❖ Boites Pétri
- ❖ Pipettes Pasteur
- ❖ Erlenmeyer
- ❖ Eprouvette
- ❖ Flacons en verre
- ❖ Tubes à essai en verre

Résumés

Résumé :

L'intérêt croissant pour les microorganismes thermophiles des biotopes chauds, comme les sources thermales terrestres, est dû à leur capacité d'adaptation moléculaire aux conditions physico-chimiques extrêmes qu'ils rencontrent, ainsi qu'à leur richesse en molécules bioactives inhabituelles. De plus, l'utilisation des enzymes provenant de ces microorganismes présente des avantages considérables et ouvre des perspectives d'amélioration et d'innovation en biotechnologie. La présente étude a pour objectif d'identifier et de cribler les activités hydrolytiques extracellulaires de bactéries thermophiles isolées d'une source thermale : Hammam Béni Guecha de la Wilaya de Mila en Algérie. Les résultats obtenus ont révélé la présence des enzymes hydrolytiques dont la gélatinase et la caséinase chez trois isolats. À la lumière de ces conclusions, il semble opportun de consacrer davantage de ressources à l'exploration des bactéries thermophiles et à approfondir leur étude afin de tirer pleinement parti de leurs propriétés prometteuses dans les domaines biotechnologiques et industriels.

Mots clés : Sources Thermales, Bactéries thermophiles, Enzymes, Criblage, Applications industrielles.

Abstract

The growing interest in thermophilic microorganisms from hot biotopes, such as terrestrial hot springs, is due to their molecular adaptation ability to extreme physicochemical conditions they encounter, as well as their richness in unusual bioactive molecules. Furthermore, the use of enzymes from these microorganisms presents considerable advantages and opens up prospects for improvement and innovation in biotechnology. This study aims to identify and screen the extracellular hydrolytic activities of thermophilic bacteria isolated from a hot spring: Hammam Béni Guecha. The results revealed the presence of enzymes including gelatinase and caseinase in three isolates. In light of these findings, it seems opportune to devote more resources to the exploration of thermophilic bacteria and to deepen their study in order to fully exploit their promising properties in biotechnological and industrial fields.

Keywords: Hot Springs, Thermophiles bacteria, Enzymes, Screening, Industrial Applications.

الملخص:

الاهتمام المتزايد بالكائنات الدقيقة الحرارية في بيئات الحرارة العالية، مثل الينابيع الحرارية البرية، يعود إلى قدرتها على التكيف الجزيئي مع الظروف الفيزيائية والكيميائية القاسية التي تواجهها، بالإضافة إلى غناها بالجزئيات الحيوية غير المألوفة. علاوة على ذلك، فإن استخدام الإنزيمات الحرارية المشتقة من هذه الكائنات الدقيقة يتيح فوائد كبيرة ويفتح آفاقاً للتحسين والابتكار في مجال التكنولوجيا الحيوية. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد وتقييم الأنشطة الهيدروليزية خارج الخلية للبكتيريا الحرارية المعزولة من ينبوع حراري حمام بني قشة في ولاية ميله في الجزائر. أظهرت النتائج الحاصلة وجود إنزيمات هيدروليزية مثل الجيلاتيناز والكازيناز في ثلاثة عينات في ضوء هذه الاستنتاجات يبدو مناسباً تخصيص المزيد من الموارد لاستكشاف البكتيريا الحرارية وتعميق دراستها من أجل الاستفادة الكاملة من خصائصها الواعدة في المجالات التكنولوجية الحيوية والصناعية.

الكلمات المفتاحية: ينابيع حرارية، إنزيمات، تقييم، تطبيقات صناعية، كائنات حية دقيقة حرارية.

Année universitaire : 2023-2024	Présenté par : Mamane Doka Awali Houyam Laouamri
Essai d'isolement des bactéries thermophiles productrices d'enzymes à partir de la source thermale de Béni Guecha. Wilaya de (Mila).	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Biothérapie	
<p>Résumé :</p> <p>L'intérêt croissant pour les microorganismes thermophiles des biotopes chauds, comme les sources thermales terrestres, est dû à leur capacité d'adaptation moléculaire aux conditions physico-chimiques extrêmes qu'ils rencontrent, ainsi qu'à leur richesse en molécules bioactives inhabituelles. De plus, l'utilisation des enzymes provenant de ces microorganismes présente des avantages considérables et ouvre des perspectives d'amélioration et d'innovation en biotechnologie. La présente étude a pour objectif d'identifier et de cribler les activités hydrolytiques extracellulaires de bactéries thermophiles isolées d'une source thermale : Hammam Béni Guecha de la Wilaya de Mila en Algérie. Les résultats obtenus ont révélé la présence des enzymes hydrolytiques dont la gélatinase et la caséinase chez trois isolats. À la lumière de ces conclusions, il semble opportun de consacrer davantage de ressources à l'exploration des bactéries thermophiles et à approfondir leur étude afin de tirer pleinement parti de leurs propriétés prometteuses dans les domaines biotechnologiques et industriels.</p>	
Mots-clefs : Sources Thermales, Bactéries thermophiles, Enzymes, Criblage, Applications industrielles.	
Laboratoires de recherche : laboratoire de microbiologie générale (UFM Constantine1).	
<p>Président du jury : Dr. Madi Aicha (MCA – UFM Constantine1).</p> <p>Encadrant : Dr. Adjeroud Moussa (MCA - UFM Constantine 1).</p> <p>Examineur(s) : Dr. Djelid Hadjer (MAB - UFM Constantine 1).</p>	