

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (D04)

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

Melle. ABDI Nessrin

Melle. AIT AISSA Kenza.

Melle. BENAHMED Dounia Rania

Thème

Caractérisation microbiologique de l'argile de hammam Bouhanifia et hammam Serguine

Soutenu publiquement le 29/06/2019

Jury:

Président : Mme. CHAALAL W

Encadreur : Mme. ABDI F Z

Examineur 1 : Mme. KHADEM H

Grade

M.C.B.

M.A.A.

Année universitaire 2018-2019

Remerciement

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce travail.

*Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement notre promotrice **Mme Abdi Fatima Z** qui nous a fait confiance et nous a permis de bénéficier de son encadrement, de nous avoir encouragé, orienté, conseillé et aidé, nous le remercions vivement pour sa disponibilité, sa patience et sa grande générosité, tout le long de notre travail,*

*Nos vifs remerciements vont également à **Mme CHALAL W et Mme KHADEME H** pour l'honneur qu'elles nous ont fait et pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de présider la commission d'examen.*

*Un grand merci à **Mr. AGGADE, Mr. ABDELI MOUSTAPHA, Mr. AIT AISSA MOHAMED, Mr. DOUCENE RADHOUANE, Mr. BENAOUMEUR YOUNES et Mr. SAID ABED ELKADER** pour leur contribution. Nous leur adressons tout notre respect pour leur disponibilité et leur gentillesse. Aussi, Nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants du département SNV qui ont participés à notre formation de Master.*

*Nous exprimons également nos sincères remerciements et notre vive reconnaissance à **Mr Hocine L**, maitre- de conférences à l'université Ibn Khaldoun Tiaret pour nous avoir donné l'opportunité d'intégrer le Master, qu'il soit assuré de notre profonde gratitude.*

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mon frère NEDJM EDDME et mes sœurs FATMA et SOUMIA, qu'Allah me les garde et bénies soient-ils, je vous aime.

A l'ange ANES Abd al moula

Mes douces et charmantes Dounia, Fatiha, Rabia, Djahida et NADIA des amie des sœurs d'une autre mère, présentent en tout lieu et momentent à mes côtés, une partie de moi sur terre.

Ma chère collègue Kenza

A toute ma famille, et mes amis

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

Je vous dis merci.

Nessrine

Dédicace

*Avec un énorme plaisir et une immense joie que je dédie
ce travail à :*

*Mes chers parents en particulier qui m'ont soutenu
et encouragé durant ces années d'étude.*

*Mes chères sœurs Dadi et Sara et leurs maris
Mohamed et Hocine.*

Mes chers frères Kaci et Momoh.

Mon neveu Aksil.

*Mes chers amis Alex, Amel, Souhila, Lina,
Yasmine, Manel et Rabea.*

La famille Ait Aissa & Benzerrouk.

Kenza

Dédicace

C'est avec un grand amour et cœur plein d'affection que je dédie ce travail à mon cher père source de courage, de bravoure et de force.

A ma chère mère source de bonheur et de sacrifice, à cœur ouvert que j'espère avoir été à la hauteur de ses espérances.

A mes chers frères Belkacem, Mohamed et Abdelillah, qu'Allah me les garde et les bénissent, dieu et témoin de l'amour que je leur porte

Ma douce et charmante Nesrine, une amie une sœur d'une autre mère, présente en tout lieu et moment à mes côtés, une partie de moi sur terre.

Je dédie aussi ce travail :

A mes très chères sœurs Rabia , Zina, Meriame, Fadwa, Nadia ,Fatiha et Djahida

A mes chers tantes et tous les membres de la famille et à toute personne qui m'a encouragé ou aidé toute au long de mon cursus

A Tahar, ami et frère, une personne exceptionnelle. Merci.

A mon groupe de recherche et amies

A tous ceux qui m'aiment.

Dounia

L'argile des zones thermales est utilisée pour soigner de nombreux maux, notre étude se penche sur la caractérisation microbiologique de l'argile des deux zones thermales de l'ouest algérien celles de Hammam Bouhanifia et hammam Serguine en mettant en évidence le pouvoir enzymatique et le pouvoir antimicrobien des souches isolées.

Dans ce cadre, un plan de travail a été adopté pour la réalisation de prélèvement, d'isolement et de purification, suivies par plusieurs tests phénotypiques, physiologiques et biochimiques, ensuite une caractérisation d'activité hydrolytique et antimicrobienne, afin d'identifier les isolats.

D'après les résultats obtenus, les soixante-quatre souches isolées sont des thermophiles (optimale est de 45° à 55°C) de forme bâtonnet à Gram positif. Elles ont des caractères physiologiques et biochimiques différents mais peuvent partager quelques-uns.

Le screening des activités hydrolytiques a permis de trouver un ou plusieurs types d'hydrolases chez 60 isolats. Cependant, la totalité des souches ont une activité antimicrobienne.

Les souches isolées, purifiées et caractérisées appartiennent aux différents genres d'actinomycètes : *Streptomyces sp.*, *Micromonospora sp.*, *Thermoactinomyces sp.*, *Laceyella Sp.*, *Shimazuella Sp.*, *Thermoflavimicrobium Sp.* et *Seinonella sp.*

Cette étude semble une contribution intéressante dans l'étude des extrémophiles hébergeant cette niche écologique connue par ses effets thérapeutiques, donc elle doit être suivie par des études plus approfondies.

Mots clés : argile, caractérisation, thermophiles, actinomycète, source thermale.

نظرًا لاستخدام المصابيح الحرارية الطينية في علاج العديد من الأمراض، تركز دراستنا على التوصيف الميكروبيولوجي للطين في منطقتين حراريتين في غرب الجزائر، وهما حمام بوحنيقة وحمام سرعين، وذلك من خلال تسليط الضوء على الطاقة الأنزيمية. وفعالية مضادات الميكروبات للسلاسل المعزولة.

في هذا السياق، تم اعتماد خطة عمل لأخذ العينات وعزلها وتنقيتها، تليها العديد من الاختبارات المظهرية، الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية، ثم توصيف نشاط الاماهة ومضادات الميكروبات، من أجل تحديد السلاسل المعزولة.

وفقًا للنتائج المتحصل عليها، فإن السلاسل الأربعة والسنتين (64) المعزولة تتميز بنمو أمثل في المدى الحراري ما بين (45 درجة إلى 55 درجة مئوية)، هي عبارة عن عصيات موجبة الجرام. تختلف هذه الأخيرة في الكثير من الخصائص الفيزيولوجية والبيوكيميائية بينما تتشارك في البعض الآخر منها.

تتميز 60 سلالة معزولة بفعالية نشاطها الانزيمي، ظف إلى ذلك أن جميع السلاسل لها نشاط مضاد للميكروبات.

تنتمي السلاسل المنعزلة والمتميزة إلى أنواع مختلفة من الأكتينومييسيت:

, Laceyella Sp., Thermoactinomyces sp. , Micromonospora sp., Streptomyces sp.

Seinonella sp., Thermoflavimicrobium Sp., Shimazuella Sp.

تعد هذه الدراسة مساهمة قيمة في التعريف بالأحياء الدقيقة التي يتميز بها هذا المحيط الخاص المعروف بخصائصه العلاجية، لذلك وجب أن يتبع بالمزيد من الدراسات المتعمقة.

. الكلمات المفتاحية: الطين، التوصيف، المحبة للحرارة، النبع الحراري

As the clay thermal areas is used to cure many ailments, our study focuses on the microbiological characterization of the clay of the two thermal zones of western Algeria, those of Hammam Bouhanifia and Serguine hammam by highlighting the enzymatic power. and the antimicrobial potency of isolated strains.

In this context, a work plan was adopted for carrying out the sampling, isolation and purification, followed by several phenotypic, physiological and biochemical tests, then a characterization of hydrolytic and antimicrobial activity, in order to identify the isolates.

According to the results obtained, the sixty-four isolated strains are thermophiles (optimal is from 45 ° to 55 ° C) of Gram-positive rod form . They have different physiological and biochemical characteristics but may share some such as .

The screening of hydrolytic activities has found one or more types of hydrolases in 60 isolates. However, all strains have antimicrobial activity.

Isolated, purified and characterized strains belong to the different kinds of actinomycetes: *Streptomyces sp.*, *Micromonospora sp.*, *Thermoactinomyces sp.*, *Laceyella Sp.*, *Shimazuella Sp.*, *Thermoflavimicrobium Sp.* And *Seinonella sp.*

This study seems an interesting contribution in the study of extremophiles hosting this ecological niche known by its therapeutic effects, so it must be followed by more in-depth studies.

Key words: clay, characterization, thermophilic, actinomycete, thermal spring.

ADH : Arginine Dihydrolase

ATCC: American Type Culture Collection

HB : Hammam Bouhanifia

H.O : Huile d'olive

HS : Hammam Sergine

LDC: Lysine Décarboxylase

ODC: Ornithine Décarboxylase

P/V : poids en volume

TSI: Triple Sugar Iron

Tw 20 et Tw 80: Tween 20 et Tween 80

Topt : Temperature Optimal

	Pages
Figure 1. Localisation des sources thermales étudiées sur la carte.....	9
Figure 2. Sources hydrothermales	10
Figure 3. Schéma des principales étapes d'isolement.....	11
Figure 4. Aspects macroscopiques des souches isolées cultivées sur le milieu de culture 1...20	20
Figure 5. Observation au microscope photonique à l'immersion (x100).....	20
Figure 6. Exemples d'activités hydrolytiques détectées	32
Figure 7. Effectifs des souches ayant pu hydrolyser les polymères testés.....	33
Figure 8. Effectifs des souches ayant pu hydrolyser les polymères tests, réparties selon leur origine d'isolement.....	33
Figure 9. Activité antimicrobienne des isolats vis-à-vis des souches pathogènes, ou potentiellement pathogènes.....	37

	Pages
Tableau 1. Classification des argiles selon la structure chimique et la couleur	4
Tableau 2. Exemples d'applications possibles d'argiles dans les industries pharmaceutique et agroalimentaire (Hernot ,2016).....	6
Tableau 3. Milieux utilisés pour l'isolement et la purification des souches.....	Annexe 3
Tableau 4. Milieux utilisés pour la caractérisation physiologique et biochimique.....	Annexe 3
Tableau 5. Milieux de culture utilisés pour la recherche des activités hydrolytiques extracellulaires	Annexe 3
Tableau 6. Répartition des isolats par origine et par milieu de culture utilisé.....	18
Tableau 7. Caractérisations culturelle et cellulaire des isolats.....	21
Tableau 8. Caractérisation physiologique des isolats.....	24
Tableau 9. Utilisation des substances organiques.....	26/27
Tableau 10. Caractérisation biochimique de l'isolats.....	30/31
Tableau 11. Activités hydrolytiques des souches étudiées.....	34
Tableau 12. La répartition des isolats sur des genres apparentés.....	36
Tableau13. Diamètre de zone d'inhibition (mm) introduit par chaque groupe.....	Annexe 4

	Pages
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
I. Partie bibliographique	
I.1 L'argile	3
I.1.1 Formation.....	3
I.1.2 Les différents types d'argiles	4
I.1.2.1 Classification selon la structure chimique.....	Erreur ! Signet non défini.
I.1.2.2 Classification selon la couleur	Erreur ! Signet non défini.
I.1.3 Propriétés	5
I.1.3.1 Absorbante et Adsorbante.....	5
I.1.3.2 Thixotrope, couvrance	5
I.1.3.3 Autres propriétés : Acide, oxydo-réductrice, photovoltaïque, radioactive	5
I.1.3.4 Colloïdale	6
I.1.3.5 Catalyseur	6
I.1.4 L'utilisation d'argile dans des différents domaines	6
I.2 Les sources thermales en Algérie.....	7
I.2.1 Historique	7
I.2.2 Les sources thermales médicalisées	7
II. Partie expérimentale	
II.1 Matériels et Méthodes	8
II.1.1 Les sources thermales étudiées	9
II.1.2 Echantillonnage	10
II.1.3 Isolement, purification et conservation	10
II.1.4 Caractérisation morphologique et culturelle	11
II.1.5 Caractérisation physiologique et biochimique.....	11
II.1.5.1 Température, pH et NaCl.....	11
II.1.5.2 Utilisation de substrats carbonés.....	12
II.1.5.2.1 Utilisation du citrate	12
II.1.5.2.2 Test Mannitol-Mobilité.....	12
II.1.5.2.3 Utilisation des sucres sur milieu Triple Sugar Iron.....	12
II.1.5.2.4 Dégradation des sucres	12
II.1.6 Mise en évidence des enzymes respiratoires	13

II.1.6.1	Catalase	13
II.1.6.2	Cytochrome oxydase	13
II.1.7	Caractérisation du type respiratoire	13
II.1.8	Caractérisation du type fermentaire	13
II.1.8.1	Réaction au rouge de méthyle (RM)	13
II.1.8.2	Réaction de Vogues Proskauer (VP).....	13
II.1.9	Recherche de la β-galactosidase.....	14
II.1.10	Recherche de l'uréase.....	14
II.1.11	Dégradation des acides aminés	14
II.1.11.1	Utilisation du tryptophane.....	14
II.1.11.2	Production de décarboxylases et de l'arginine dihydrolase.....	14
II.1.12	Mise en évidence d'activités hydrolytiques extracellulaires	14
II.1.12.1	Amylase.....	15
II.1.12.2	Protéases.....	15
II.1.12.2.1	Hydrolyse de la gélatine.....	15
II.1.12.2.2	Hydrolyse de la caséine.....	15
II.1.12.3	Activités lipolytiques	15
II.1.12.3.1	Hydrolyse des Tween 20 et 80	15
II.1.12.3.2	Hydrolyse de l'huile d'olive.....	15
II.1.13	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne	16
II.2	Résultats et discussion
II.2.1	Isolement et purification des isolats.....	17
II.2.2	Caractérisation phénétique des isolats (Caractérisations culturelle et cellulaire des isolats).....	19
II.2.2.1	Aspect macroscopique	19
II.2.2.2	Aspect microscopique.....	20
II.2.3	Caractérisation physiologique des isolats	22
II.2.3.1	Température de croissance.....	22
II.2.3.2	Tolérance au NaCl et spectre de pH.....	22
II.2.4	Caractérisation biochimique des isolats.....	25
II.2.4.1	Utilisation des substrats carbonés	25
II.2.4.1.1	Utilisation des sucres sur milieu Triple Sugar Iron.....	Erreur ! Signet non défini.
II.2.4.1.2	Test Mannitol-Mobilité.....	25
II.2.4.2	Mise en évidence des enzymes respiratoires	28
II.2.4.3	Caractérisation du type respiratoire	28
II.2.4.4	Caractérisation du type fermentaire	28

II.2.4.5	Recherche de la β -galactosidase	28
II.2.4.6	Recherche de l'uréase	28
II.2.4.7	Utilisation du tryptophane.....	28
II.2.4.8	Production de décarboxylases (LDC, ODC) et arigininedihydrolase (ADH)	29
II.2.5	Profile des activités hydrolytiques extracellulaires des souches isolées	32
II.2.6	Classification des isolats	Erreur ! Signet non défini.
II.2.7	Profile d'activité antimicrobienne	37
	Conclusion générale et perspectives.....	38
	Références bibliographiques	
	Annexes	
	Glossaire	

Depuis la création du monde, l'homme s'est toujours servi de la terre glaise, il en est même issu, d'après le Coran « Nous créâmes l'homme d'une argile crissante, extraite d'une boue malléable. » (Sourate 15 AL-HIJR, 26), « C'est Lui qui vous a créés d'argile ; puis il vous a décrété un terme, et il y a un terme fixé auprès de Lui. Pourtant, vous doutez encore » (Sourate 6 AL-AN'AM, 2)

L'argile des sources thermales est connue pour ses divers effets thérapeutiques, elle est souvent utilisée pour soigner les différentes affections rhumatologiques, gastroentérologiques, dermatologiques ou en pélothérapie qui repose sur l'application locale de cataplasme de boue thermale, permet de procurer des effets antalgiques et décongestionnants grâce à son principe actif et sa richesse minérale (en oligo-éléments) et microbienne (Boudia, 2009).

La microflore de cette argile est généralement extrêmophile « thermophile », elle s'adapte aux températures élevées de ce biotope. Ces micro-organismes ont, au cours de l'évolution, développé des stratégies adaptatives très variées. Ils présentent de ce fait un répertoire de voies métaboliques et de biomolécules originales leur permettant non seulement de survivre dans des conditions extrêmes, mais aussi de se développer souvent de manière optimale dans des niches écologiques extrêmes (Quérellou et Guézennec, 2010).

L'étude des extrêmophiles fournit de nouvelles clefs à la compréhension des processus de la vie dans des conditions extrêmes et démêle les mécanismes développés par les systèmes biologiques afin d'y faire face. Ces connaissances acquises sont par la suite employées pour développer de nouveaux bioproduits et bioprocédés dans divers champs tels que les industries de produits chimiques, pharmaceutiques, de produits de beauté, de textile, de papier et alimentaire (Antranikian, 2009).

Vue l'importance thérapeutique de l'argile et comme l'étude microbiologique de cette matière n'est pas mise en évidence en Algérie, notre travail se penche sur la caractérisation microbiologique des deux sources thermales de l'Ouest de notre pays, celles de hammam Serguine et Bouhanifia à travers :

La détermination d'une liaison entre les effets thérapeutiques des argiles et les bactéries existantes (activité antimicrobienne) et le pouvoir biotechnologique (activité enzymatique) de celle-ci.

La présente étude s'articule autour de trois parties :

- Première partie est une synthèse bibliographique sur l'argile, les bienfaits et les domaines d'application de cette matière et des généralités sur les sources thermales.
- Deuxième partie expérimentale décrit les principales étapes d'isolement et d'identification des bactéries existante dans les argiles de deux zones thermales (hammam bouhanifia et hammam sreguine) : la détermination de la capacité d'hydrolyse et le pouvoir antimicrobien, suivie par la discussion des résultats obtenus ainsi leur interprétation.
- Enfin, une conclusion générale et des perspectives qui sont un ensemble de réflexions achèvent ce travail.

I.1 L'argile

I.1.1 Formation

Les argiles naissent du sol en constant mouvement. Elles apparaissent selon trois grands processus de formation, juxtaposables. Le premier est relatif à la simple décomposition des roches par érosion. Les phénomènes caractérisant une érosion des sols sont nombreux. La pluie, le vent, le gel, le dégel, les vagues et bien d'autres sont autant de phénomènes naturels à l'origine de la formation des argiles. Le deuxième processus est appelé néoformation. Ceci correspond à la formation du minéral. Par combinaison, des substances transportées par l'eau du sol vont, par combinaison, s'arranger pour former une structure minérale. Le troisième mécanisme correspond au processus de transformation des minéraux évoluant par dégradation (perte d'équilibre du sol) ou aggradation (accumulation de sédiments dans un cours d'eau par excès de transport par l'eau) d'ions minéraux argileux (Villieras, 2008).

I.1.2 Les différents types d'argiles

Tableau 1. Classification des argiles selon la structure chimique et la couleur

Selon la structure chimique	Kaolin	Cette roche argileuse tire son nom du site chinois kao-Ling, où elle fut découverte. On appelle la roche kaolin et le minéral argileux kaolinite. Cette argile blanche, douce, friable, réfractaire, riche en silice et peu concentrée en sels minéraux, elle est utilisée pour la fabrication de porcelaine et de céramique. C'est une des rares argiles inertes chimiquement. Cette caractéristique en fait un composant idéal pour le papier, en tant que liant dans les peintures, dans les plastiques, ainsi que dans les médicaments. (Merabet et Belkacemi, 2003)
	Illites	Son nom fait référence à l'Illinois, aux États-Unis où elle a été étudiée. Sa composition est riche en calcium (14%), en fer (9%) et pauvre en magnésium. Elle présente un bon pouvoir d'absorption environ 25 % de son poids et un faible pouvoir d'adsorption. On l'utilise en tant que cataplasme épais à appliquer sur les contusions diverses (entorses...), ou encore pour absorber des impuretés (déchets organiques, micro-organismes...).
	Chlorites	Ce nom leur a été attribué pour leur couleur verdâtre. Des chlorites de couleur jaune, rouge ou blanche sont également retrouvés. De structure similaire aux illites et smectites, l'espace entre leurs feuillets abrite une couche supplémentaire d'hydroxyde de magnésium, de fer ou d'aluminium... (Orcel, Caillère et Hénin, 1950)
	Smectites	Cette famille d'argile regroupe les montmorillonites, les bentonites, les saponites, les nontronites, les beidelites... Elles sont appelées argiles gonflantes. Sous l'action de l'eau, elles peuvent augmenter leur volume jusqu'à 30%. En piégeant l'eau elles fixent aussi des actions permettant les échanges par adsorption. Elles prennent une texture de type gel, pouvant transporter des ions ou des molécules actives, cette propriété est à la base des technologies de pansements pour le tube digestif. (Moore et Reynolds, 1989)
	Vermiculites	Les vermiculites sont des argiles ayant une origine volcanique, riches en magnésium. Elles sont formées par hydratation de minéraux basaltiques. Lorsqu'elle est chauffée, elle éprouve un phénomène de dilatation, la rendant particulièrement utile comme isolant thermique pour les constructions. (Valášková et Martynkova, 2012)
Selon la couleur Les argiles ne sont pas identifiées par leur couleur. Une couleur peut être attribuée à plusieurs types d'argiles. La variation de couleur constatée est fonction de la concentration en oxyde de fer	Verte	Les argiles vertes présentent une faible teneur en fer, ce sont généralement les montmorillonites, les illites et les smectites.
	Blanche	Ces argiles ne contiennent aucune substance colorée. On retrouve le plus souvent des kaolinites mais également des smectites. (Merabet et Belkacemi, 2003)
	Rose	Ces roches argileuses ne sont pas retrouvées au naturel, telles quelles. Il s'agit d'un mélange d'argile rouge et d'argile blanche. Ce mélange a pour but d'augmenter la concentration en oligo-éléments de l'argile blanche tout en diminuant la concentration en fer de l'argile rouge. (Cousin, 2013)
	Rouge	Généralement des illites, ces argiles sont riches en oxyde de fer. Très reminéralisantes, elles sont idéales en usage externe pour les peaux irritées, fatiguées ou ternes. (Ségalen, 1969)
	Jaune	Ces illites riches en oxyde de fer et magnésie vont apaiser de nombreuses douleurs (articulaires, musculaires) et tonifier la peau. Appliquées en masques, la peau et les cheveux normaux l'apprécient tout particulièrement. (Ségalen, 1969)

I.1.3 Propriétés

I.1.3.1 Absorbante et Adsorbante

L'absorption correspond à l'internalisation d'un liquide ou d'un gaz. L'exemple typique est celui de l'éponge s'imbibant de liquide. Au niveau de l'argile, ce phénomène est passif, il se produit par capillarité. Les argiles les plus absorbantes ne sont pas conseillées en usage.

L'adsorption est une autre qualité des argiles. Contrairement au phénomène d'absorption qui internalise les molécules (à l'état liquide ou gazeux), l'adsorption correspond à la fixation de molécules en surface (Andrienne, 2003).

I.1.3.2 Thixotrope, couvrance

L'effet thixotrope fait passer l'argile de l'état solide à celui d'un gel en fonction de son hydratation. Par adsorption, l'argile va gonfler par écartement de ses feuillets jusqu'à disparition des espaces libres entre les cristaux. L'eau ne peut alors plus circuler, rendant la roche imperméable (Andrienne, 2003).

Le pouvoir couvrant résulte de l'effet thixotrope. Le gel formé se fixe à la muqueuse digestive. Les feuillets, de part la disparition des espaces libres, empêchent l'accès à la muqueuse des acides. Ce processus permet de soulager les douleurs de la sphère digestive, avec un effet protecteur des muqueuses digestives.

I.1.3.3 Autres propriétés : Acide, oxydo-réductrice, photovoltaïque, radioactive

Les argiles présentent des atomes de surface à caractère accepteur ou donneur d'électrons. Les sites donneurs vont piéger les accepteurs d'électrons et inversement. Une charge sera transférée entre les formes adsorbées ou entre cations échangeables ou bien l'oxydation ou la réduction du cation à la surface de l'argile par le champ électrique fort du cation. Le pH de l'argile varie de 4,6 à 10,2.

L'argile peut capter, transférer et cumuler l'énergie solaire (et également radioactive). Cette propriété est relative à la présence de silice dans la structure de l'argile. Cet oligoélément est capable de retenir les photons et de les stocker sous forme d'énergie électrique, principe du photovoltaïque. On appelle propriété « radioactive » de l'argile la présence de roches dégradées

présentant une faible radioactivité résiduelle, donc elle possède une certaine radioactivité naturelle (Coyne, 1984).

I.1.3.4 Colloïdale

Contrairement à une solution vraie, l'argile mise en suspension est dite colloïdale. Cette spécificité dépend de la taille des particules.

I.1.3.5 Catalyseur

Utilisées essentiellement dans l'industrie pétrochimique pour cette propriété, les argiles vont permettre la catalyse hétérogène ou « cracking » du pétrole pour le transformer en essence.

I.1.4 L'utilisation d'argile dans des différents domaines

Tableau 2 : Exemples d'applications possibles d'argiles dans les industries pharmaceutique et agroalimentaire (Hernot ,2016).

Industrie pharmaceutique	Vétérinaire	<ul style="list-style-type: none"> - Anti-mottant - Excipient - Anti-infectieux et stimulant - Immunostimulant - Purifiant intestinal - Reconstituant du manteau céphalique
	Humaine, (base diagnostique, thérapeutique)	<ul style="list-style-type: none"> - Traitement de la sphère digestive - En orthodontie - Vecteur de nanoparticules - En tant qu'antipoison - En association à certains médicaments
En agroalimentaire	Filtration d'eau dans le but d'un approvisionnement en eau potable absorbation des aflatoxines	

I.2 Les sources thermales en Algérie

I.2.1 Historique

Les traces retrouvées dans les sources thermales remontent à l'époque romaine. Ils construisirent leurs sites autour des sources thermales tel *Aquae Mauretaniae Cesarienne* (Hammam Righa) ; *Aquae Serenses* (Hammam Bouhanifia) ; *Aquae Chibilita Nae* (Hammam Meskoutine) (Ouali, 2008).

Les arabes aussi exploitèrent les sources thermales, en effet très souvent les sources portent le nom d'un marabout comme hammam Bouhadjar qui doit son nom au marabout sidi Ahmed Bouhadjer (Ouali, 2008).

Les Turcs construisirent dans les villes des bains chauds avec des installations permettant le stockage de l'eau de source (Ouali, 2008).

Les français pendant l'époque coloniale construisirent des hôpitaux thermaux autour des sources pour se soigner (Ouali, 2008).

I.2.2 Les sources thermales médicalisées

Sur le territoire algérien, il existe plus de 200 sources thermales. Les températures mesurées à l'émergence varient de 19°C à 98°C.

Parmi ces nombreuses sources thermales, huit stations seulement sont médicalisées, il s'agit de : Hammam Bouhanifia (Mascara), Hammam Bouhadjer (Ain Temouchent), Hammam Boughrara (Tlemcen), Hammam Rabbi (Saida), Hammam Righa (Ain Defla), Hammam Guergour (Setif), Hammam Salhine (Biskra) et Hammam Meskoutine (Guelma).

Les établissements disposent d'équipement adéquats et un encadrement médical et paramédical qualifié pour prodiger des soins basés sur des méthodes scientifiques de la crénothérapie et la pélothérapie (Ouali, 2008).

II. Partie expérimentale

II.1 Matériels et Méthodes

Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, au laboratoire de reproduction des animaux de la ferme et au laboratoire d'hygiène et pathologie animale à l'Université De Tiaret pour une durée de 4 mois allant de février à juin 2019.

Objectifs du travail

Notre propos est d'essayer de caractériser la flore microbienne existante dans les argiles de hammam Sreguine et hammam Bouhanifia, tout en mettant en évidence la capacité de ces souches à inhiber les bactéries pathogènes. La détermination d'une liaison entre les effets thérapeutiques des argiles et les bactéries existantes (activité antimicrobienne) et le pouvoir biotechnologique (activité enzymatique) de celle-ci.

II.1.1 Les sources thermales étudiées

Les échantillons d'argile ont été prélevés sur des sites répartis entre les sources thermales situées dans les Wilayas de Tiaret et de Mascara :

- **Hamam Serguine** est situé à 141 km au Sud-est du Chef-lieu de la Wilaya de Tiaret. Le site comprend 2 sources d'eaux thermales à des températures de 37 à 39.5°C au point d'émergence. Elles sont de types soufrées, calciques, sulfatées, chlorurées et sodiques. (Seurat et Fremy, 1937)

- **Hamam Bouhanifia** est situé à 25 km au Sud-ouest du Chef-lieu de la Wilaya de Mascara et à 230m d'altitude. Le site comprend 6 sources d'eaux thermales à des températures de 20 à 70°C au point d'émergence. Elles sont de types bicarbonatées, calciques, radioactives, chlorurées et sodiques. (Boughlali, 2003)

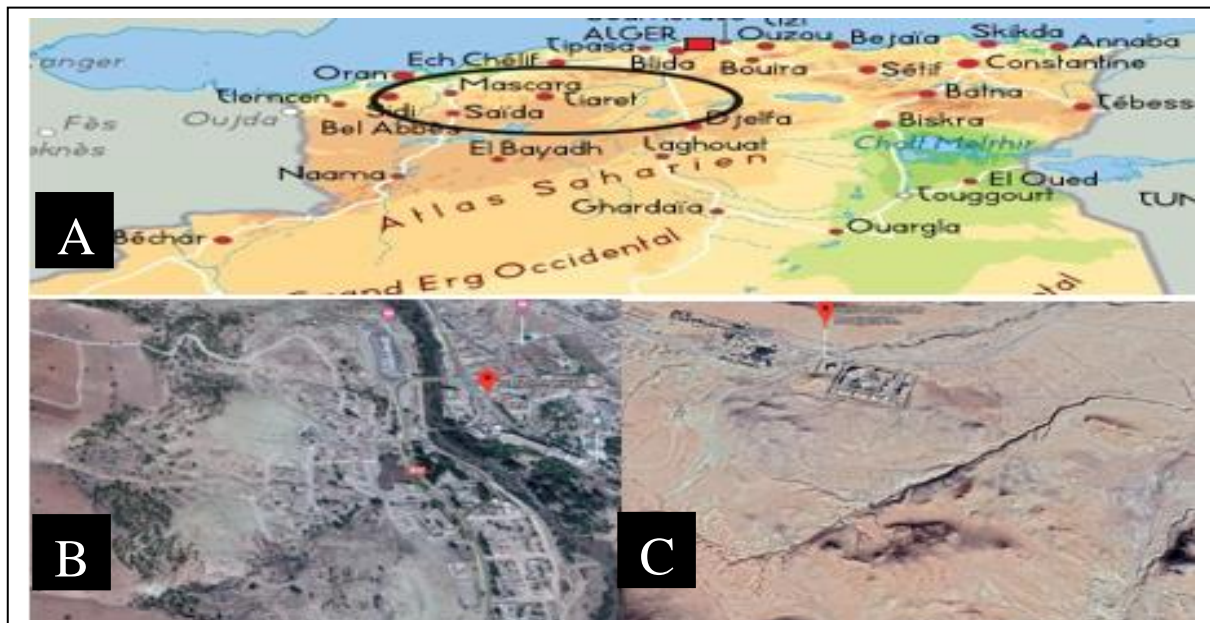


Figure 1 : A : Carte géographique du nord algérien sur laquelle les zones d'étude sont indiquées par le cercle. B : Localisation de la source thermique Bouhanifia. C : Localisation de la source thermique Serguine (Google Map consultée le 09/06/2019)

II.1.2 Echantillonnage

Les échantillons d'argiles ont été prélevés entre le mois de Février et Avril 2019 à partir de quatre points, répartis entre les sources thermales de hammam Bouhnifia (3 points) et de hammam Serguine (1 point). Le choix des échantillons est réalisé de façon à obtenir un échantillon représentatif (5 prélèvements de chaque point). Les échantillons d'argiles sont prélevés à 20-30 cm de la surface dans des flacons et sacs stériles et transportés dans une glacière à 4°C vers le laboratoire.



Figure 2 : **A :** source thermale de Bouhanifia. **B :** source thermale de Serguine. (Photos prises par une caméra de téléphone Sony Xperia 16 MPix).

II.1.3 Isolement, purification et conservation

L'isolement des souches a été effectué sur six milieux de culture solides différents (Tableau3 (Annex3)). Ces derniers sont peu sélectifs et conçus pour cultiver le plus grand nombre de bactéries possibles. Les milieux de culture sont obtenus par addition de 1,5% (p/v) d'Agar-Agar, le pH est ajusté à 7,4 à l'aide d'une solution de NaOH et l'incubation est faite à 44°C. Ces conditions sont les plus couramment utilisés pour l'études des bactéries thermophiles (Yavuzl *et al.*, 2004 ; Goodfellow et Jones, 2009 ; Logan *et al.*, 2009b).

Les échantillons d'argiles, sont d'abord tamisés pour la préparation de la solution mère et les dilutions décimales (en utilisant l'eau de source stérile).

L'isolement est effectué par étalement de 1 ml de chaque dilution 10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6} . L'incubation des boîtes de Pétri a lieu pendant 24 à 72 heures.

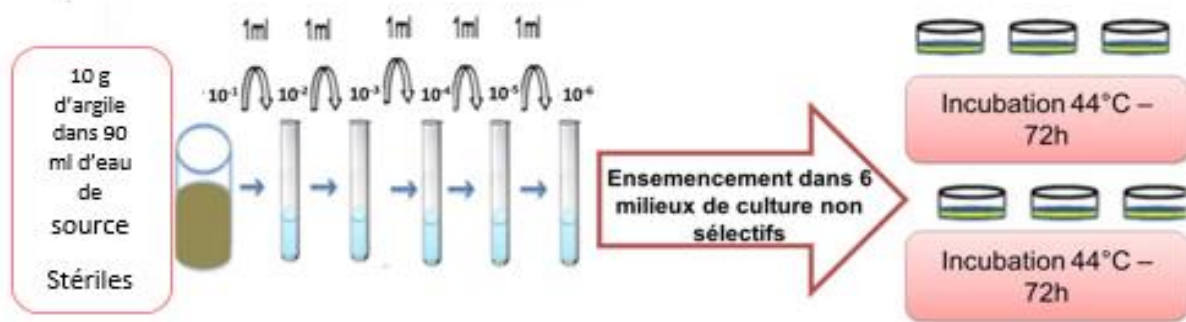


Figure 3 : Schéma des principales étapes d'isolement

De chaque milieu, environ une dizaine de colonies d'aspect différent est prélevée et purifiée par repiquages successifs sur les mêmes milieux solides. Les souches pures sont conservées à 4°C.

II.1.4 Caractérisation morphologique et culturale

La détermination de l'aspect macroscopique des colonies (forme, pigmentation, taille, etc.) est effectuée après croissance sur milieu solide après une incubation de 24 à 72 heures à l'aide d'une loupe binoculaire. La morphologie, l'arrangement cellulaire et le Gram des isolats sont déterminés sur des cultures de 24 heures par la technique de coloration différentielle décrite par Gram (1884) (Annexe 3) à l'aide d'un microscope photonique (lié à un ordinateur).

II.1.5 Caractérisation physiologique et biochimique

La composition chimique des milieux de culture pour l'analyse biochimique est rapportée dans le tableau 4 (Annexe 3)

II.1.6 Température, pH et NaCl

L'influence de la température, du pH et de la concentration en NaCl sur la croissance est déterminée sur milieu solide en variant un des paramètres alors que les deux autres sont maintenus constants. La croissance est contrôlée périodiquement entre 24 et 72 heures d'incubation. Les milieux solides ensemencés sont incubés à 35 ; 45 ; 55 ou 65°C. La tolérance au NaCl est étudiée en faisant varier la concentration finale de ce paramètre à 0 ; 1 ; 5 ; 9 et 12% (p/v) (Nazina et al., 2001). L'intervalle de pH permettant la croissance est déterminé en variant ce dernier de 4 à 10 (Harley et Prescott, 2002).

II.1.7 Utilisation de substrats carbonés

L'utilisation des substrats carbonés comme source unique de carbone et/ou d'énergie a été testée sur des différents milieux.

II.1.7.1 Utilisation du citrate

L'habilité des souches à utiliser le citrate comme seule source de carbone et d'énergie est testée sur le milieu citrate de Simmons. Le virage au bleu du milieu indique une réaction positive (Harley et Prescott, 2002).

II.1.7.2 Test Mannitol-Mobilité

La mobilité des souches ainsi que la fermentation du mannitol sont étudiées sur le milieu semi-solide Mannitol-Mobilité. La mobilité de l'isolat est interprétée par un envahissement du milieu à partir de la pique d'inoculation et la fermentation du mannitol est traduite par un virage au jaune du milieu de culture (Harley et Prescott, 2002).

II.1.7.3 Utilisation des sucres sur milieu Triple Sugar Iron

La fermentation du glucose avec production d'acide, l'oxydation du saccharose et/ou du lactose, la libération d'H₂S et de CO₂ sont appréciées sur le milieu Triple Sugar Iron. La fermentation est interprétée par le virage de couleur du culot, l'oxydation par le virage de couleur de la pente, la libération de H₂S par un noircissement sur le culot et de CO₂ par la présence des bulles dans le milieu. (TSI) (Harley et Prescott, 2002).

II.1.7.4 Dégradation des sucres

L'utilisation des sucres comme source unique de carbone et d'énergie est testé sur milieu MEVAG. Les sucres sont rajoutés à une concentration finale de 1 %. Le virage du milieu en jaune indique une réaction positive.

Les substrats testés sont : le galactose, l'arabinose, le maltose et la xylose.

II.1.8 Mise en évidence des enzymes respiratoires

II.1.8.1 Catalase

La catalase permet la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit par la souche. Sa recherche consiste à mettre en contact une colonie d'isolat en présence d'eau oxygénée à 10 volumes. Une effervescence due à un dégagement gazeux traduit la présence de cette enzyme (Joffin et Leyral, 2006).

II.1.8.2 Cytochrome oxydase

La cytochrome oxydase est une enzyme qui intervient à la fin de la chaîne respiratoire pour catalyser la fixation de l'hydrogène et des électrons sur l'oxygène. Sa production est mise en évidence par des disques « Ox » imprégnés d'oxalate N-N-diméthylparaphénylène. Une quantité suffisante de culture est déposée sur le disque imbibé d'eau distillée. Une couleur bleue violacée se manifeste en quelques minutes en cas de réaction positive (Joffin et Leyral, 2006).

II.1.9 Caractérisation du type respiratoire

Test Viande Foie (VF)

Le type respiratoire est caractérisé sur le milieu solide Viande Foie. L'ensemencement de chaque souche est doublé sur deux tubes dont l'un des deux, la vasline est ajoutée sur la gélose. La lecture se fait après 24h d'incubation, l'apparition des colonies indique un résultat positif.

II.1.10 Caractérisation du type fermentaire

II.1.10.1 Réaction au rouge de méthyle (RM)

La production d'acides mixtes par les souches est mise en évidence par ensemencement du bouillon glucosé de Clark et Lubs. La lecture se fait après incubation de 24h par addition de quelques gouttes de réactif au rouge de méthyle et le virage de la couleur du bouillon au rouge indique la production d'acides mixtes (Harley et Prescott, 2002).

II.1.10.2 Réaction de Vogues Proskauer (VP)

La production d'acétylméthylcarbinol (réaction de Voges-Proskauer) par les isolats est révélée par l'apparition d'une coloration rose du bouillon de Clark et Lubs après addition de 0,5 ml d' α -naphthol et le même volume de soude à 40% (p/v) (réaction de Barrit) (Harley et Prescott, 2002).

II.1.11 Recherche de la β -galactosidase

A une suspension dense des bactéries testées en eau distillée stérile, un disque imprégné d'Ortho-Nitro-phényl- β -Galactoside (ONPG) est ajouté puis incubée à 45°C pendant 30 à 60 minutes. L'apparition d'une couleur jaune indique l'hydrolyse de l'ONPG et donc la présence d'une β -galactosidase (Joffin et Leyral, 2006).

II.1.12 Recherche de l'uréase

L'enzyme hydrolysant l'urée est recherchée sur une gélose à l'urée de Christensen. La production de l'uréase libère le carbonate d'ammonium qui alcalinise le milieu d'où virage de l'indicateur coloré de l'orange en rose ou en rouge-violacé (Harley et Prescott, 2002).

II.1.13 Dégradation des acides aminés

II.1.13.1 Utilisation du tryptophane

La recherche de la tryptophanase, complexe enzymatique permettant la production d'indole à partir du tryptophane, est réalisée par inoculation d'un tube d'eau peptonée exempte d'indole. La production d'indole est mise en évidence par ajout de quelques gouttes du réactif de Kovacs (para-diméthyl-aminobenzaldéhyde/N-amyl ou isoamyl alcool/HCl pur) et une réaction positive est interprétée par l'apparition d'un anneau rouge à la surface (Joffin et Leyral, 2006).

II.1.13.2 Production de décarboxylases et de l'arginine dihydrolase

Les activités enzymatiques de l'ornithine décarboxylase (ODC), de la lysine décarboxylase (LDC) et de l'arginine dihydrolase (ADH) sont examinées en anaérobiose, sur le bouillon de Moeller à partir d'une suspension dense de culture. Une activité positive est interprétée par une couleur violette (alcalinisation du milieu) et l'absence d'enzyme est exprimée par un virage au jaune (acidification du milieu) (Joffin et Leyral, 2006).

II.1.14 Mise en évidence d'activités hydrolytiques extracellulaires

Les isolats sont soumis à une recherche qualitative d'hydrolases extracellulaires à 45°C. Un milieu gélosé est modifié par réduction de la source organique (milieu de base) et l'addition du polymère-test (Demirjian et al. 1999 ; Tholey et Heinzle, 2002). La composition des milieux modifiés utilisés est rapportée dans le tableau 5 (Annexe 2).

II.1.14.1 Amylase

L'activité amylolytique est examinée en ajoutant 1% (p/v) d'amidon soluble au milieu de base. L'incubation est effectuée pendant 1 à 3 jours et la lecture se fait par inondation des boîtes avec une solution de lugol (Annexe 3). La présence de zones claires autour de l'ensemencement témoigne de la production d'amylases (Gordon *et al.*, 1973).

II.1.14.2 Protéases

II.1.14.2.1 Hydrolyse de la gélatine

Le milieu de base est additionné de 0,4% (p/v) de gélatine. L'incubation est effectuée pendant 1 à 2 jours et la lecture se fait en rinçant les boîtes avec le réactif de Frazier (annexe2). L'hydrolyse de la gélatine est indiquée par l'apparition de zones claires autour des stries (Frazier, 1926).

II.1.14.2.2 Hydrolyse de la caséine

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. La présence d'une activité caséinolytique se manifeste par la présence d'un halo clair autour des colonies suite à l'hydrolyse de ce polymère (Priest *et al.*, 1988).

II.1.14.3 Activités lipolytiques

L'estérase est recherchée par le test d'hydrolyse des Tween 20 et 80, le test d'hydrolyse de l'huile d'olive permet la recherche de lipase.

II.1.14.3.1 Hydrolyse des Tween 20 et 80

Les Tween 20 ou 80 stériles sont rajoutés à une concentration de 1% (v/v) au milieu de base stérile en surfusion. Les boîtes de Pétri ensemencées sont incubées pendant 1 à 3 jours. Une lecture positive est traduite par l'apparition de zones claires autour des colonies productrices de lipases (Sierra, 1957).

II.1.14.3.2 Hydrolyse de l'huile d'olive

Le milieu de base est stérilisé et additionné de 2,5% (v/v) d'huile d'olive stérilisé séparément. Le mélange est homogénéisé par agitation. Après ensemencement en spots et incubation

pendant 1 à 3 jours. Une lecture positive (production de l'estérase) est notée lorsqu'il y a apparition des zones translucides autour des spots (Sigurgísladóttir *et al.*, 1993).

II.1.15 Mise en évidence de l'activité antimicrobienne

La recherche de l'activité antimicrobienne permet de cribler les souches productrices de molécules antimicrobiennes actives en mettant en évidence des zones d'inhibition de la croissance par la technique des stries croisées. cette technique consiste à ensemencer la souche par un strie central sur boîte de pétrie contenant le milieu Mueller Hinton, de l'incuber pendant 48h à 38°C puis standardiser.

Ensuite les souches tests (*Staphylococcus aureus* ATCC25923. *Escherichia coli* ATCC25922 et *Condida albucans* seront revivifiées dans un bouillon nutritif (incubation à 37°C pendant 30 min), enrichies pendant 24h à 37°C puis ensemencées par des stries croisant perpendiculairement (90°) à celui de notre souche, incuber à 37°C pendant 48h. Une autre boîte témoin du milieu Mueller Hinton est ensemencée avec les souches tests (*Staphylococcus aureus. Escherichia coli et Condida albucans*) seules et incuber dans les mêmes conditions, cette boîte servira de témoin.

La production de molécules antimicrobiennes se traduira par une inhibition partielle ou totale des souches tests.(Bastide *et al.*, 1986)

II.2 Résultats et discussion

Les résultats d'identification des bactéries étudiées sont récapitulés dans les tableaux (6, 7, 8, 9, 10,11)

II.2.1 Isolement et purification des isolats

Les six milieux de cultures utilisés ont permis l'isolement d'une centaine de souches à partir des échantillons des différents sites (hammam Serguine et hammam Bouhanifia). Au final, soixante-quatre (64) isolats sont retenus pour cette étude et désignés selon un code composé de lettres et de numéros. Sur ce total, 41 isolats sont issus de la région de hammam Serguine et 23 isolats de la région de Bouhanifia (Tableau 6). Les observations des premiers isolements ont montré une croissance importante et rapide sur les milieux de culture 2 et 3 par rapport aux milieux M1, M4, M5 et M6. En effet, les premières colonies sont apparues après 18 à 24 heures d'incubation. Par la suite, les souches purifiées sont repiquées et conservées sur le milieu M2. Ce choix peut être justifié par le fait que la croissance de tous les isolats, était meilleure et plus rapide sur ce milieu (les colonies apparaissaient après 12 à 24 heures d'incubation à 44°C).

Résultats et Discussion

Tableau 6. Répartition des isolats par origine et par milieu de culture utilisé.

MILIEUX DE CULTURE	Points de prélèvement		
	Hammam Sreguine	Hammam Bouhanifia	totale
1	HS1, HS2, HS3		3
2	HS4, HS5, HS6, HS7, HS8, HS9, HS10, HS11, HS12, HS13	HB46, HB47, HB48, HB49, HB50, HB51, HB52, HB53, HB54, HB55, HB56	21
3	HS14, HS15, HS16, HS17, HS18, HS19, HS20, HS21, HS22, HS23, HS24, HS25, HS26, HS27, HS28, HS29, HS30, HS31, HS32, HS33,	HB57, HB58, HB59, HB60	24
4	HS34, HS35	HB61, HB62	4
5	HS36, HS37, HS38, HS39, HS40, HS41,	HB63, HB64	8
6		HB42, HB43, HB44, HB45	4
totale	41	23	64

II.2.2 Caractérisation phénétique des isolats (Caractérisations culturelle et cellulaire des isolats)

La caractérisation phénétique des isolats a été réalisée après avoir déterminé les conditions optimales de croissance (température, pH et salinité).

Les résultats des caractères culturels et cellulaires des isolats sont présentés dans le tableau 7.

II.2.2.1 Aspect macroscopique

L'observation macroscopique des souches sur le milieu M2, a permis de dégager trois aspects différents de colonies (Figure 4) :

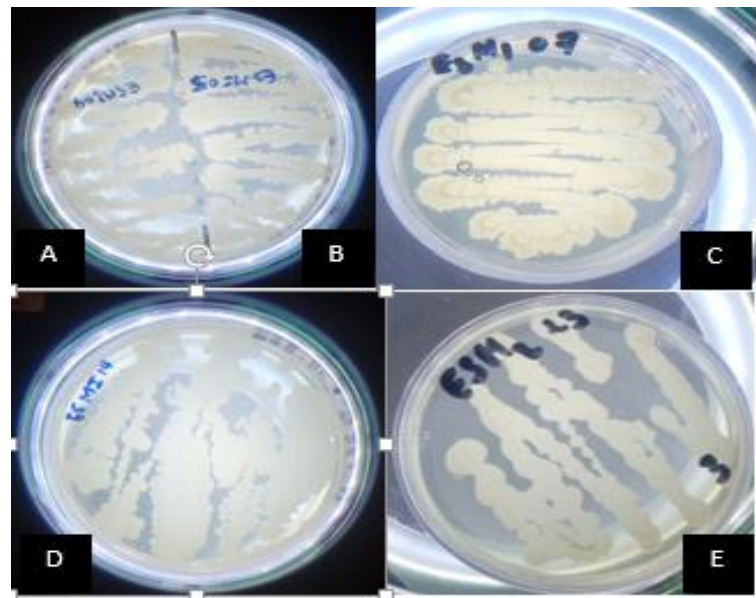
- Trente-trois (33) colonies de type muqueux (M), Ce type cultural est le plus rencontré, colonies muqueuses et bombées, translucides voir transparentes, à bords réguliers, irréguliers et /ou ondulés.
- Vingt-neuf (29) colonies de type lisse (L), caractérisé par des formes ombiliquées, de consistance crémeuses, translucides à opaques à la lumière, transparentes dans certains cas. Leur surface est lisse, bombée et les bords sont réguliers.
- Deux (2) colonies de type rugueux (R) présentent ce type de formation. Les colonies ont une surface rugueuse, lobée, à bords dentelés ou filamenteux, de consistance sèche, opaque à la lumière.

Ces colonies présentent un mycélium aérien abondant de couleur blanche et/ou beige, et un mycélium de substrat de la même couleur. L'observation sous une loupe binoculaire révèle des structures filamenteuses touffues.

Figure 4. Aspect macroscopique des souches isolées cultivées sur le milieu (2).

- A. souche **HS4** Type **R**
- B. souche **HS5** Type **L**
- C. souche **HS7** Type **L**
- D. souche **HS14** Type **M**
- E. souche **HS23** Type **M**

Photos prises avec un téléphone Sony Xperia16 MP.



II.2.2.2 Aspect microscopique

La coloration de Gram, effectuée sur des cultures jeunes (18h) sur milieu M2, a révélé que quarante-quatre (44) souches sont à Gram positif et vingt (20) souches sont à Gram négatif. Les formes cellulaires observées en microscopie photonique sont les suivantes : - Des bâtonnets parfois enflés à l'extrémité, isolés ou arrangés en longues chaînes ou en chaînettes selon les isolats. Une fois âgées (cultures de 72 heures), quelques souches forment une endospore par cellule en position terminale ou subterminale (Figure 5). Ce type cellulaire a été observé avec les souches formant des colonies de types lisse ou muqueux.

Figure 5. Observation au microscope photonique et à l'immersion (x100).

- A. Coloration de Gram de la souche **HS11**.
- B. Coloration de Gram de la souche **HB47**.
- C. Coloration de Gram de la souche **HS6**.
- D. Coloration de Gram de la souche **HB50**.

Photos enregistrées par un microordinateur liée à un microscope photonique.

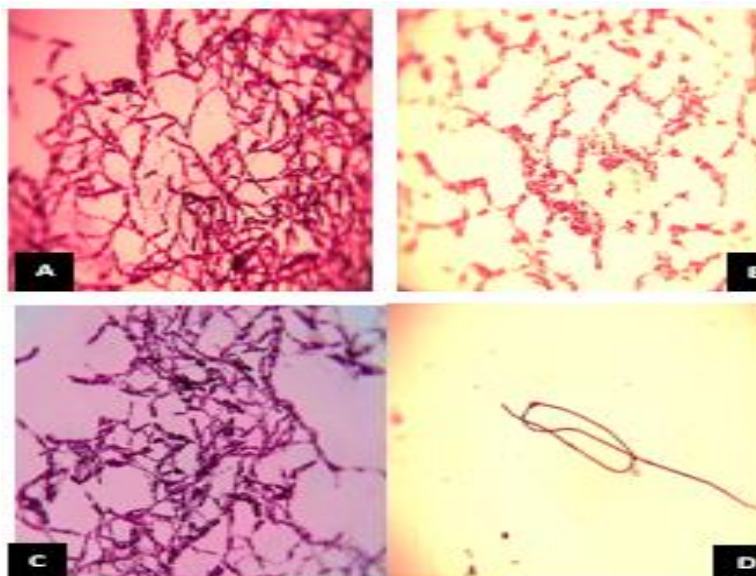


Tableau 7. Caractérisations culturelle et cellulaire des isolats.

souche	gram	forme des cellules	aspect colonies	couleur	souche	Gram	forme des cellules	aspect colonies	couleur
HS1	+	bâtonnet	L	T	HS33	+	bâtonnet	M	B
HS2	+	bâtonnet	M	T	HS34	-	bâtonnet	M	B
HS3	+	bâtonnet	M	T	HS35	+	bâtonnet	M	C
HS4	+	bâtonnet	R	B	HS36	+	bâtonnet	R	B
HS5	-	bâtonnet	L	B	HS37	-	bâtonnet	M	C
HS6	+	bâtonnet	M	C	HS38	+	bâtonnet	M	T
HS7	+	bâtonnet	L	B	HS39	-	bâtonnet	L	B
HS8	+	bâtonnet	M	C	HS40	+	bâtonnet	M	B
HS9	+	bâtonnet	L	B	HS41	-	bâtonnet	L	B
HS10	+	bâtonnet	M	B	HB42	-	bâtonnet	L	C
HS11	-	bâtonnet	L	B	HB43	-	bâtonnet	L	C
HS12	-	bâtonnet	L	B	HB44	-	bâtonnet	L	C
HS13	-	bâtonnet	M	B	HB45	+	bâtonnet	L	C
HS14	+	bâtonnet	M	B	HB46	+	bâtonnet	L	C
HS15	+	bâtonnet	M	B	HB47	-	bâtonnet	L	C
HS16	-	bâtonnet	M	B	HB48	+	bâtonnet	L	C
HS17	+	bâtonnet	M	B	HB49	+	bâtonnet	L	C
HS18	-	bâtonnet	M	B	HB50	+	bâtonnet	L	C
HS19	+	bâtonnet	L	B	HB51	-	bâtonnet	L	C
HS20	-	bâtonnet	M	B	HB52	-	bâtonnet	L	C
HS21	+	bâtonnet	M	B	HB53	+	bâtonnet	L	B
HS22	+	bâtonnet	M	B	HB54	+	bâtonnet	L	C
HS23	-	bâtonnet	M	B	HB55	-	bâtonnet	L	C
HS24	+	bâtonnet	M	B	HB56	+	bâtonnet	L	B
HS25	+	bâtonnet	M	T	HB57	+	bâtonnet	L	T
HS26	+	bâtonnet	L	B	HB58	+	bâtonnet	M	C
HS27	+	bâtonnet	M	C	HB59	+	bâtonnet	M	C
HS28	+	bâtonnet	M	B	HB60	+	bâtonnet	M	C
HS29	-	bâtonnet	M	B	HB61	+	bâtonnet	L	C
HS30	+	bâtonnet	M	B	HB62	+	bâtonnet	L	B
HS31	+	bâtonnet	M	B	HB63	+	bâtonnet	M	C
HS32	+	bâtonnet	M	B	HB64	+	bâtonnet	L	C

+ : résultat positif. - : résultat négatif. L : lisse. M : muqueux. R : rigoureux. T : transparente. B : blanche. C : crème.

II.2.3 Caractérisation physiologique des isolats

II.2.3.1 Température de croissance

La gamme de températures explorée varie de 37 à 65°C. Au-delà de 70°C, l'agar devient instable et l'évaporation de l'eau est très importante ce qui rend la culture impossible. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 8. Généralement, la croissance de l'ensemble des souches est optimale entre 44°C et 60°C, ce qui correspondait à la température initiale de l'isolement de la plupart des souches. Selon les intervalles de croissance obtenus, deux (2) groupes différents peuvent être dégagés :

- Le premier groupe correspond aux souches ayant un intervalle température comprise entre 37 et 55°C ;
- Le deuxième est celui des souches qui ont une température maximale de croissance de 65°C et un minimum 35°C.

Les microorganismes thermophiles et hyperthermophiles sont désormais classés surtout selon leur optimum de température de croissance, et les classifications précédentes, basées sur le concept de thermophilie, de thermotolérance et des intervalles minimal et maximal de croissance étant trop restrictives, ont été écartées (Mesbah et Wiegel 2008 ; Wagner et Wiegel 2008). Ils sont ainsi classés en thermophiles modérés (Topt de 50° à 70°C), thermophiles extrêmes (Topt de 70°C à 80°C) et hyperthermophiles (Topt>80°C) (Stetter, 1996). En se basant sur cette définition, nos souches dont l'optimum de croissance est situé entre 44 et 60°C, sont qualifiées de thermophiles modérées. Généralement, c'est le cas de la majorité des bactéries hétérotrophes aérobies isolées jusqu'à maintenant (Logan et Halket, 2011).

II.2.3.2 Tolérance au NaCl et spectre de pH

Les spectres de salinité et de pH enregistrés figurent dans le tableau (8). Toutes les souches étudiées peuvent se développer dans un interval de salinité varie de [0-9].Cependant, la plupart sont incapables de croitre au-de là de 12% (p/v) de NaCl.

Nos isolats présentent une gamme de pH de croissance relativement large (pH 5 à pH 10) avec un optimum $\approx 7,5$. Cependant, un groupe formé de trente-quatre (34) souches a pu se développer de ces limites. En effet, les isolats poussant à des concentrations en NaCl de 12% (p/v), possèdent un intervalle de pH plus considérable que les autres isolats. Ce sont les neutrophiles qui font une croissance optimale dans un intervalle de pH compris entre 7 et 8. Mais elles peuvent se développer à des valeurs de pH inférieurs(McKinney, 2004), telle est le cas pour les

actynomycètes qui sont des neutrophiles et considérées comme des acidotolérantes (Wang *et al.*, 2006), alcalitolérantes et halotolérantes (Larsen, 1986 ; Krulwich et Guffanati, 1989).

Selon leurs exigences en NaCl, les microorganismes sont divisés en deux groupes :

- Les halophiles : ont exigé le sel (NaCl) pour leurs croissances, cette concentration peut varier de 1-6 % (p/v) pour les faiblement halophiles, jusqu'à 15-30 % pour les bactéries halophiles extrêmes.
- Les halotolérants : acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leurs croissances. On distingue, les légèrement tolérants (tolèrent de 6 à 8 % de NaCl (p/v)) ; les modérément tolérants (tolèrent de 18 à 20 % de NaCl (p/v)) et les extrêmement tolérants (se développent de 0 % jusqu'à saturation en NaCl) (Nanjani, 2011).

Ces deux caractères sont souvent conjugués et il a été prouvé que l'alcali-résistance voir même l'alcaliphilie exigeait la présence intracellulaire d'ions sodium pour le métabolisme et la régulation, c'est la raison pour laquelle la plupart des organismes alcaliphiles sont au moins halotolérants. Cette tolérance peut s'étendre sur de larges intervalles de pH, ce qui signifie qu'elles peuvent se développer également à des pH acides grâce à d'autres mécanismes, d'acidotolérance cette fois-ci (accumulation de solutions compatibles et de protons H⁺) (Lewinson *et al.* 2004). Par ailleurs, de nombreux polyextrêmophiles « alcali-thermophiles et halophiles » ont été déjà isolés (Mesbah et Wiegel 2008 ; Canganella et Wiegel, 2011). A l'image de cette espèce de l'ordre des Thermotogales (*Thermopallium natronophilum*), thermophile extrême, halophile et alcaliphile (Duckworth *et al.*, 1996).

Tableau 8. Caractérisation physiologique des isolats.

souche	T °C [min-max[pH [min-max]	Nacl (%) [min-max]	souche	T °C [min-max[pH [min-max]	Nacl (%) [min-max]
HS1	37-55	5-9	0-12	HS33	37-65	5-10	0-9
HS2	37-55	5-9	0-12	HS34	37-65	5-10	0-12
HS3	37-55	5-10	0-12	HS35	37-65	5-10	0-12
HS4	37-65	5-10	0-12	HS36	37-55	5-10	0-12
HS5	37-65	5-10	0-12	HS37	37-65	5-10	0-9
HS6	37-65	5-10	0-12	HS38	37-55	5-10	0-9
HS7	37-55	5-10	0-12	HS39	37-55	5-10	0-9
HS8	37-55	5-10	0-9	HS40	37-55	5-10	0-9
HS9	37-55	5-10	0-9	HS41	37-65	5-10	0-12
HS10	37-65	5-10	0-12	HB42	37-65	5-9	0-12
HS11	37-65	5-10	0-9	HB43	37-65	5-9	0-9
HS12	37-65	5-10	0-9	HB44	37-65	5-10	0-9
HS13	37-65	5-9	0-9	HB45	37-65	5-9	0-9
HS14	37-65	5-10	0-12	HB46	37-65	5-10	0-9
HS15	37-65	5-10	0-12	HB47	37-65	5-9	0-9
HS16	37-65	5-10	0-12	HB48	37-65	5-9	0-12
HS17	37-65	5-10	0-12	HB49	37-65	5-9	0-12
HS18	37-65	5-10	0-12	HB50	37-55	5-10	0-9
HS19	37-65	5-10	0-12	HB51	37-55	5-10	0-12
HS20	37-65	5-10	0-9	HB52	37-65	5-10	0-9
HS21	37-65	5-10	0-12	HB53	37-65	5-10	0-9
HS22	37-65	5-10	0-12	HB54	37-65	5-10	0-12
HS23	37-65	5-10	0-12	HB55	37-65	5-9	0-9
HS24	37-65	5-10	0-12	HB56	37-65	5-10	0-12
HS25	37-55	5-10	0-9	HB57	37-65	5-10	0-12
HS26	37-65	5-10	0-12	HB58	37-65	5-10	0-12
HS27	37-65	5-10	0-9	HB59	37-65	5-10	0-12
HS28	37-55	5-10	0-9	HB60	37-65	5-10	0-12
HS29	37-55	5-10	0-9	HB61	37-65	5-10	0-12
HS30	37-55	5-10	0-9	HB62	37-65	5-10	0-12
HS31	37-65	5-10	0-12	HB63	37-55	5-10	0-12
HS32	37-65	5-10	0-12	HB64	37-55	5-10	0-9

II.2.4 Caractérisation biochimique des isolats

II.2.4.1 Utilisation des substrats carbonés

Les résultats de croissance sur les différents substrats testés comme unique source de carbone, d'énergie et/ou d'azote sont présentés dans le tableau (9). Les sucres sont les plus assimilés par les isolats et il en est de même du mannitol. Cette fermentation n'est pas accompagnée d'une production de CO₂ et d'H₂S.

II.2.4.1.1 Test Mannitol-Mobilité

La fermentation du mannitol a été observée chez les soixante-deux 62 souches. Un virage faible de l'indicateur au jaune a également été noté. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'acidification produite par les bactéries aérobies strictes est, en général insuffisante face à l'importance du pouvoir tampon du milieu (Joffin et Leyral, 2006). La plupart des souches sont mobiles (51 souches).

Tableau 9. Utilisation des substances organiques.

souche	Glucose	Saccharose	Lactose	Citrate	Maltose	Galactose	Arabinose	Xylose	Mannitol
HS1	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HS2	+	+	+	+	+	-	+	+	+
HS3	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HS4	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HS5	+	+	+	+	+	+	+	-	+
HS6	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HS7	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HS8	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HS9	-	-	-	+	+	-	-	+	+
HS10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS11	-	-	-	+	+	+	+	+	+
HS12	+	+	+	+	+	+	+	-	+
HS13	+	+	+	+	+	+	+	-	-
HS14	-	-	-	-	+	+	+	+	+
HS15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS16	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HS17	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS18	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HS19	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS21	+	+	+	+	+	-	+	+	+
HS22	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS23	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS24	+	+	+	+	+	-	+	+	+
HS25	-	-	-	+	+	+	+	+	+
HS26	-	-	-	+	+	+	+	+	+
HS27	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS28	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS29	+	-	-	+	+	+	+	+	+
HS30	+	+	+	+	+	-	+	+	+
HS31	+	+	+	+	-	+	+	+	+
HS32	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS33	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : Présence de croissance. - : Absence de croissance.

Tableau 9. Utilisation des substances organique (Suite).

souche	Glucose	Saccharose	Lactose	Citrate	Maltose	Galactose	Arabinose	Xylose	Mannitol
HS34	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS35	-	-	-	+	+	+	+	+	+
HS36	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS37	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS38	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HS39	+	-	-	+	+	+	+	+	+
HS40	+	-	-	+	+	+	-	+	+
HS41	+	-	-	+	+	+	+	+	+
HB42	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HB43	+	-	-	-	-	-	+	+	+
HB44	+	+	+	-	+	+	+	-	-
HB45	+	-	-	-	+	+	-	+	+
HB46	+	-	-	+	+	+	+	+	+
HB47	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HB48	+	-	-	-	+	-	+	+	+
HB49	+	-	-	-	+	+	+	-	+
HB50	+	+	+	-	-	+	-	+	+
HB51	+	+	+	-	+	-	+	+	+
HB52	+	+	+	-	+	-	+	+	+
HB53	+	-	-	+	+	-	+	+	+
HB54	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HB55	+	+	+	-	+	-	+	+	+
HB56	+	-	-	-	+	+	+	+	+
HB57	+	-	-	+	+	-	+	+	+
HB58	+	+	+	-	+	+	+	+	+
HB59	+	-	-	-	+	+	+	+	+
HB60	+	-	-	-	-	-	+	+	+
HB61	+	-	-	-	-	-	+	+	+
HB62	+	-	-	+	+	+	+	+	+
HB63	+	-	-	+	+	+	+	+	+
HB64	+	-	-	-	+	+	+	+	+

+ : Présence de croissance. - : Absence de croissance.

II.2.4.2 Mise en évidence des enzymes respiratoires

Toutes les souches bactériennes étudiées possèdent au moins l'une des deux enzymes respiratoires recherchées, et quarante-trois (43) d'entre elles sont oxydase et catalase positives. La plupart des microorganismes aérobies possèdent ces enzymes y compris les bactéries thermophiles.

II.2.4.3 Caractérisation du type respiratoire

Quatorze (14) souches n'ont pas apparues dans le milieu contenant la vaseline ce qui indique l'intolérance de ces souches à l'anaérobiose ce sont des aérobies stricts, et cinquante (50) souches ont apparues dans les deux milieux donc ce qui indique que ce sont des anaérobies facultatifs.

II.2.4.4 Caractérisation du type fermentaire

Quarante-deux (42) souches ont réagi positivement au test au rouge de méthyle, indicateur de la production d'acides mixtes, et trente-quatre (34) souches au test du Voges-Proskauer, indicateur de la production d'acétoïne par fermentation du glucose. Il faut noter que 28 isolats sont positifs aux deux tests.

II.2.4.5 Recherche de la β -galactosidase

Sur les soixante-quatre (64) souches testées pour l'hydrolyse de l'ONPG, trente et une (31) possèdent une β -galactosidase. L'absence d'une β -galactoside-perméase responsable du transport du lactose à l'intérieur de la cellule serait responsable parfois du résultat négatif de la β -galactosidase (Joffin et Leyral, 2006).

II.2.4.6 Recherche de l'uréase

Trente-trois (33) souches se sont révélées uréase positives en se basant sur l'alcalinisation plus ou moins importante du milieu de Christensen.

II.2.4.7 Utilisation du tryptophane

La mise en évidence de l'indole, et donc de la tryptophanase, a été positive pour cinquante-deux (52) souches de cette étude.

II.2.4.8 Production de décarboxylases (LDC, ODC) et arigininedihydrolase (ADH)

Les résultats de la recherche de la lysine décarboxylase, l'ornithine décarboxylase et de l'arginine dihydrolase sont donnés dans le tableau (6). Sur l'ensemble des souches, toutes les souches sont ADH positive, cinquante-neuf (59) sont ODC positive et cinquante-trois (53) sont LDC positive.

Tableau 10. Caractérisation biochimique des isolats.

Souche	Sac/lac*	Glu*	H2S*	Gaz*	Man**	Mob**	catalase	oxydase	RM	VP	β-gal	Urée	Indole	ADH	ODC	LDC	Vf/Vf v
HS1	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/+
HS2	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+/-
HS3	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
HS4	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+/-
HS5	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+/-
HS6	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+/-
HS7	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+/-
HS8	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+/-
HS9	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+/-
HS10	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+/+
HS11	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+/+
HS12	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+/+
HS13	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+/+
HS14	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+/+
HS15	+	+	-	-	+	t+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+/+
HS16	+	+	-	-	+	t+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+/+
HS17	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+/+
HS18	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+/+
HS19	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+/+
HS20	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+/+
HS21	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+/+
HS22	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+/+
HS23	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+/+
HS24	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+/+
HS25	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+/+
HS26	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+/+
HS27	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+/+
HS28	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+/+
HS29	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+/-
HS30	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+/+
HS31	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+/+
HS32	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+/+

+ : réaction positive. - : réaction négative. *: résultats du milieu TSI. **: Résultats du milieu Mannitol-Mobilité. β-gal : β-galactosidase. Mob : mobilité.

RM : rouge de méthyl. VP : Voges-Proskauer. Vf/Vfv : milieu viande foie / milieu viande avec une couche de vaseline

Tableau 10. Caractérisation biochimique des isolats (Suite).

Souche	Sac/lac*	Glu*	H ₂ S*	Gaz*	Man**	Mob**	catalase	oxydase	RM	VP	β-gal	Urée	Indole	ADH	ODC	LDC	Vf/vfv
HS33	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
HS34	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+/+
HS35	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+/+
HS36	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
HS37	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+/-
HS38	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+/+
HS39	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
HS40	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+/+
HS41	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+/+
HB42	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+/+
HB43	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+/+
HB44	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+/-
HB45	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+/+
HB46	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+/+
HB47	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+/+
HB48	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
HB49	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+/+
HB50	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+/+
HB51	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+/-
HB52	+	+	-	-	+	f+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
HB53	-	+	-	-	+	f+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/+
HB54	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+/+
HB55	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+/-
HB56	-	+	-	-	+	t+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+/+
HB57	-	+	-	-	+	f+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+/+
HB58	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+/+
HB59	-	+	-	-	+	t+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+/+
HB60	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+/-
HB61	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+/+
HB62	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+/+
HB63	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+/+
HB64	-	-	-	-	+	f+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+/+

+: réaction positive. -: réaction négative. *: résultats du milieu TSI. **: Résultats du milieu Mannitol-Mobilité. β-gal : β-galactosidase. Mob : mobilité.

RM : rouge de méthyl. VP : Voges-Proskauer. Vf/Vfv : milieu viande foie / milieu viande avec une couche de vaseline

II.2.5 Profile des activités hydrolytiques extracellulaires des souches isolées

Un screening des activités amylolytiques, protéolytiques, lipolytiques a été effectué. La présence de ces activités a été détectée en utilisant les substrats suivants : caséine, gélatine tween 20, tween 80, huile d'olive et amidon, respectivement (Figure7). Les résultats présentés dans le tableau 11 représentent ceux obtenus après plusieurs essais.

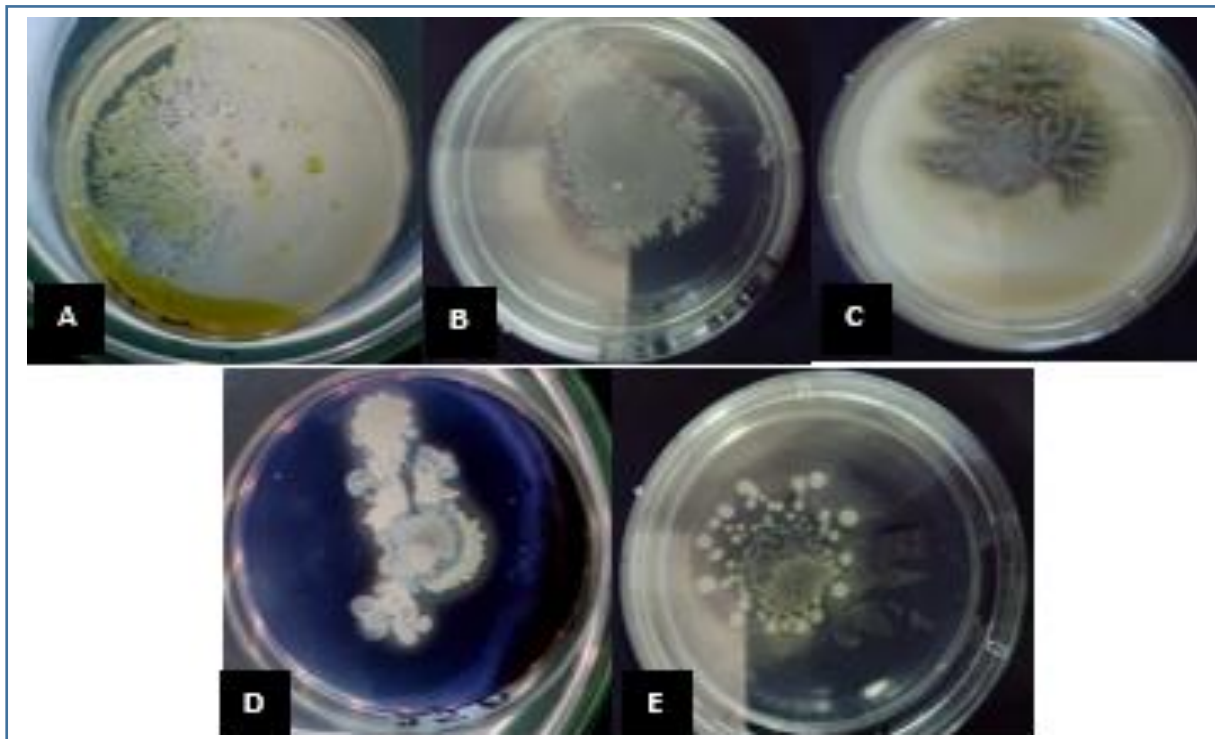


Figure 6. Exemples d'activités hydrolytiques détectées.

A. Hydrolyse de l'amidon par la souche SH41 ; **B.** Hydrolyse du tween20 par la souche HB59 ;
C. Hydrolyse de la caséine par la souche HS32 ; **D.** Hydrolyse de l'amidon par la souche HB47 ;
E. Hydrolyse du tween80 par la souche HS27.
 Photos prises avec un téléphone Sony Xperia 16 MP.

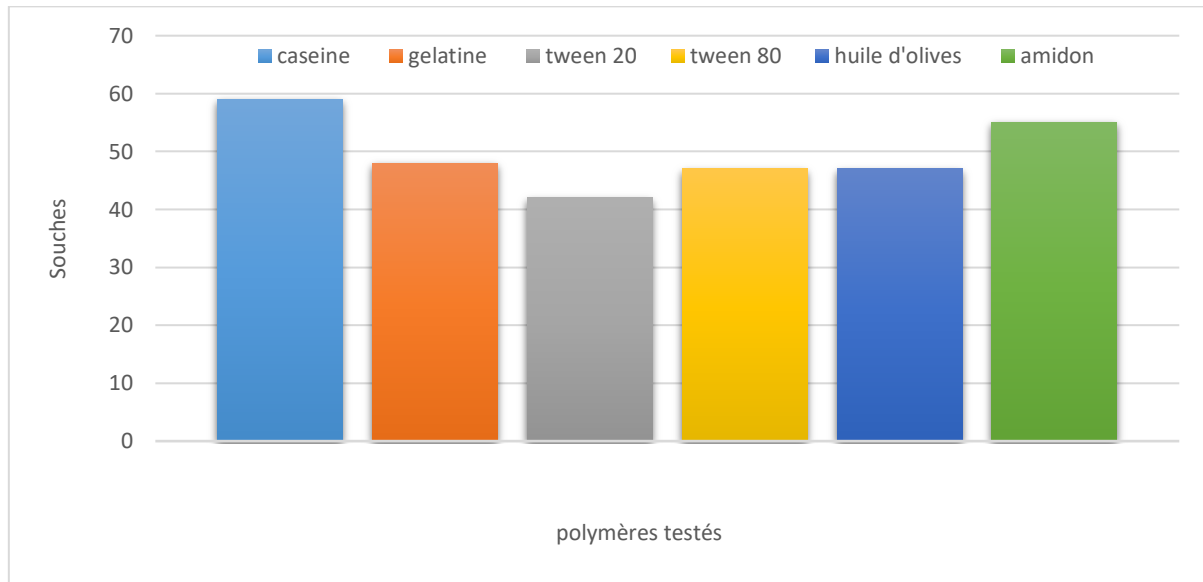


Figure 7. Effectifs des souches ayant pu hydrolyser les polymères testés.

Dix-neuf (19) souches ont la capacité de dégrader tous les substrats tests par contre quatre (4) souches n'ont aucune activité hydrolytique. Les autres ont la capacité de dégrader au moins deux substrats de nature différente. Quarante-quatre (44) souches ont une activité protéolytique vis à vis la gélatine et la caséine. Quarante-huit (48) hydrolysent la gélatine, cinquante-neuf (59) hydrolysent la caséine. Cinquante-cinq (55) peuvent hydrolyser l'amidon. Le tween 20 est hydrolysé par quarante-trois (43) souches. Quarant-sept (47) souches ont la capacité lypolitique vis à vis le tween 80 et l'huile d'olive. D'après ces résultats, il est clair que l'activité protéolytique est prédominante (Figure 7). La comparaison des profils de production enzymatique selon la provenance des isolats est présentée dans la figure 8.

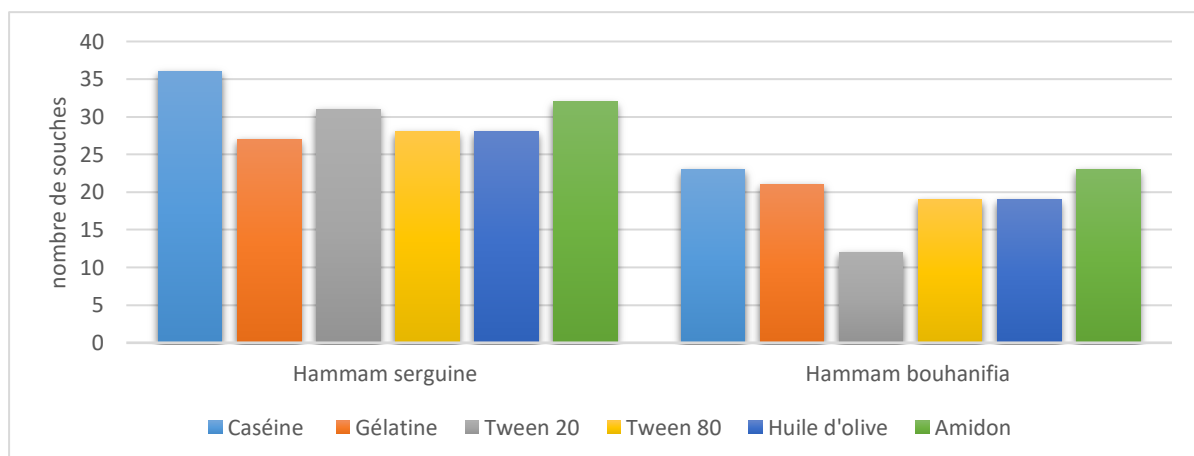


Figure 8. Effectifs des souches ayant pu hydrolyser les polymères tests, réparties selon leur origine d'isolement

Tableau 11. Activités hydrolytiques des souches étudiées.

Souche	Cas	Gel	Tw 20	Tw80	H.O	Ami	Souche	Cas	Gel	Tw20	Tw80	H.O	Ami
HS1	+	+	+	+	+	+	HS33	+	-	+	+	+	+
HS2	+	+	-	-	-	-	HS34	+	-	+	+	+	+
HS3	+	+	+	-	-	+	HS35	+	+	+	+	+	+
HS4	+	+	+	-	-	+	HS36	-	+	-	-	-	-
HS5	-	-	-	-	-	-	HS37	+	-	-	+	+	+
HS6	+	+	+	-	-	+	HS38	+	-	-	+	+	-
HS7	+	+	+	+	+	+	HS39	+	+	-	+	+	+
HS8	+	-	+	+	+	+	HS40	+	-	+	+	+	+
HS9	+	-	+	+	+	+	HS41	+	+	+	+	+	+
HS10	+	-	-	+	+	+	HB42	+	+	+	+	+	+
HS11	+	-	+	+	+	+	HB43	+	+	-	+	+	+
HS12	+	-	+	+	+	+	HB44	+	-	-	+	+	+
HS13	+	+	+	+	+	+	HB45	+	+	-	+	+	+
HS14	-	+	+	+	+	-	HB46	+	+	+	+	+	+
HS15	-	+	+	-	-	-	HB47	+	+	+	+	+	+
HS16	+	+	+	-	-	+	HB48	+	+	+	+	+	+
HS17	+	-	+	-	-	+	HB49	+	+	+	+	+	+
HS18	+	+	+	-	-	+	HB50	+	+	-	+	+	+
HS19	+	+	+	+	+	+	HB51	+	+	+	+	+	+
HS20	+	+	+	-	-	-	HB52	+	+	-	+	+	+
HS21	-	+	+	+	+	-	HB53	+	+	+	+	+	+
HS22	+	-	+	+	+	-	HB54	+	+	+	-	-	+
HS23	+	+	+	-	-	+	HB55	+	+	-	+	+	+
HS24	+	+	+	+	+	+	HB56	+	+	+	-	-	+
HS25	+	+	+	+	+	+	HB57	+	+	+	+	+	+
HS26	+	+	-	+	+	+	HB58	+	+	+	-	-	+
HS27	+	+	-	+	+	+	HB59	+	-	+	+	+	+
HS28	+	+	+	-	-	+	HB60	+	+	-	+	+	+
HS29	+	+	+	+	+	+	HB61	+	+	-	+	+	+
HS30	+	+	+	+	+	+	HB62	+	+	-	-	-	+
HS31	+	-	+	+	+	+	HB63	+	+	-	+	+	+
HS32	+	+	-	+	+	+	HB64	+	+	-	+	+	+

+ : réaction positive - : réaction négative F : Activité décelée mais faible. Ami : hydrolyse de l'amidon. Gél : hydrolyse de la gélatine. Cas : hydrolyse de la caséine.

Tw20, 80 : hydrolyse des tweens 20 et 80. H.O : hydrolys

II.2.6 Classification

Les aspects morphologiques et culturels ont constitué les critères essentiels d'identification, pour la majorité des souches étudiées.

Par contre, d'autres souches ont nécessité une caractérisation biochimique et un screening enzymatique associé d'une analyse de pouvoir antimicrobien.

Finalement, il est obligatoire d'utiliser une étude multifactorielle pour atteindre une classification pertinente.

D'après les observations macroscopiques et microscopiques, la caractérisation physiologique et biochimique et la détermination des profils enzymatiques, les isolats peuvent être classés selon Bergey's manuel (2009 et 2012) dans les deux grandes familles *Actinomycetaceae* et *Thermoactinomycetaceae*.

Nous avons identifié six genres différents : *Streptomyces sp.*, *Micromonospora sp.*, *Thermoactinomyces sp.*, *Laceyella Sp.*, *Shimazuella Sp.*, *Thermoflavimicrobium Sp.*, *Seionella sp.*

Les actinomycètes sont classés dans le domaine Bactéria et phylum des Actinobacteria qui est subdivisé en 06 classes dont celle de Actinobacteria. Celle-ci se divise en 15 ordres. Les plus importants sont ceux des Actinomycetales et Streptomycetales (Goodfellow et al., 2012).

Elles regroupent actuellement un grand nombre de genres très variés. A cause de cette diversité morphologique et physiologique, il est difficile de trouver des caractères qui soient communs à tous les membres (Lechevalier, 1974).

Quantitativement, ils occupent une place intermédiaire entre les populations bactériennes et fongiques. Leur nombre peut atteindre facilement 10^6 et a même 10^8 par gramme du poids sec de terre sur une population totale de 10^9 microorganismes. Cette quantité est très variable et dépend de plusieurs facteurs climat, types du sol, profondeur, acidité, teneur en matières organiques, aération et teneur en eau du sol. Ils sont en nombre considérable dans le sol neutre ou légèrement alcalin, riche en matières organiques surtout en résidus végétaux. Ce nombre diminue au fur et à mesure qu'on descend en profondeur ou quand le sol est saturé d'eau (Lechevalier, 1974).

La répartition des souches isolées selon les genres se démontre dans le tableau suivant

Tableaux 12. La répartition des isolats sur des genres apparentés.

Souches	Caractéristiques identiques avec celle de bergy's (2009 et 2012)	Genres
1, 7, 13, 19, 24,25,26,27,29, 30,35,39,41,42, 43,45,46,47,48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 57, 59,60, 63,64.	Elles sont caractérisées par l'absence de mycélium aérien et de sporange. Elles présentent un mycélium végétatif tenu, non fragmente et des spores uniques rattachées sur le mycélium ou à son extrémité par de courtes sporophores. La température de croissance est de 37 à 65 °C. Le spectre de pH est de 5 à 10. La Tolérance de Nacl atteindre jusqu' à 12 % p/v. Elles ont la capacité de dégrader la caséine, la gélatine, le tween 20, le tween 80, l'huile d'olive, et l'amidon. Elles ont une activité antimicrobienne importante.	<i>Streptomyces sp.</i>
3,4,6,16,18,23,28,54,56,58,62.	Elles sont caractérisées par l'absence du mycélium aérien et de sporange. Elles présentent un mycélium végétatif tenu, non fragmentée et des spores uniques rattaches sur le mycélium ou à son extrémité par de courtes sporophores Elles ont une température de croissance varie 37 à 65 °C avec un spectre de pH de 5 à 10 et une Tolérance de Nacl jusqu' à 12 % p/v. Elles ont dépourvu de toutes les enzymes hydrolytiques Elles ont une activité anti microbienne importante	<i>Micromonospora sp.</i>
2,20, 21, 22,38, 44,12.	Elles sont caractérisées par la présence d' mycélium aérien ramifié et septé blanc. Bien développé, et par des endospores produites séparément sur les hyphes aériens et substrats. Elles ont une température de croissance varie 37 à 65 °C avec un spectre de pH de 5 à 10 et une Tolérance de Nacl jusqu' à 12 % p/v. Elles ont la capacité de dégrader la caséine et la gélatine. Elles ont une activité antimicrobienne importante.	<i>Thermoactinomyces sp</i>
8, 9, 10, 11, 17,31, 33, 34, 37, 40,59.	Elles ont un mycélium aérien et substrat sont formés. Mycélium aérien est abondant et blanc. Bien développé, ramifié et septé. Elles ont une température de croissance varie 37 à 65 °C avec un spectre de pH de 5 à 10 et une Tolérance de Nacl jusqu' à 12 % p/v. Elles ont la capacité de dégrader la caséine et l'amidon mais pas la gélatine. Elles ont une activité antimicrobienne importante.	<i>Laceyella Sp.</i>
27,32.	Elles ont un mycélium aérien blanc. Avec présence d'endospore. Elles ont une température de croissance varie 37 à 65 °C avec un spectre de pH de 5 à 10 et une Tolérance de Nacl jusqu' à 12 % p/v. Elles ont dépourvu d'estérase et de lipase Elles ont β -galactosidase négative Elles ont une activité antimicrobienne importante.	<i>Shimazuella Sp.</i>
5, 14, 15,36.	Le mycélium de substrat est blanc à brun jaunâtre et le mycélium aérien blanc. Présence des endospores Température optimale de croissance de 37 à 65 °C avec un spectre de pH de 5 à 10 et une Tolérance de Nacl jusqu' à 12 % p/v. Elles ont dépourvu de toutes les enzymes hydrolytiques. Elles ont une activité antimicrobienne importante.	<i>Seinonella sp.</i>

II.2.7 Profil d'activité antimicrobienne

La maîtrise des infections bactériennes et fongiques devient complexe du fait de l'émergence des bactéries et des champignons résistants à de nombreux antimicrobiens conventionnels. En effet, plusieurs bactéries multirésistantes sont rapportés (Benbachir et *al.*, 2001 ; Kacou et *al.*, 2001 ; Akoua et *al.*, 2004). La recherche de l'activité antimicrobienne et antifongique permet de cribler les souches productrices des molécules antibactériennes et/ou antifongiques actives se traduira par une inhibition partielle ou totale des souches testées.

En mettant en évidence les zones d'inhibition (tableau 13 Annexe 4) de la croissance par la technique des stries croisées et les résultats sont présentées dans la figure suivante :

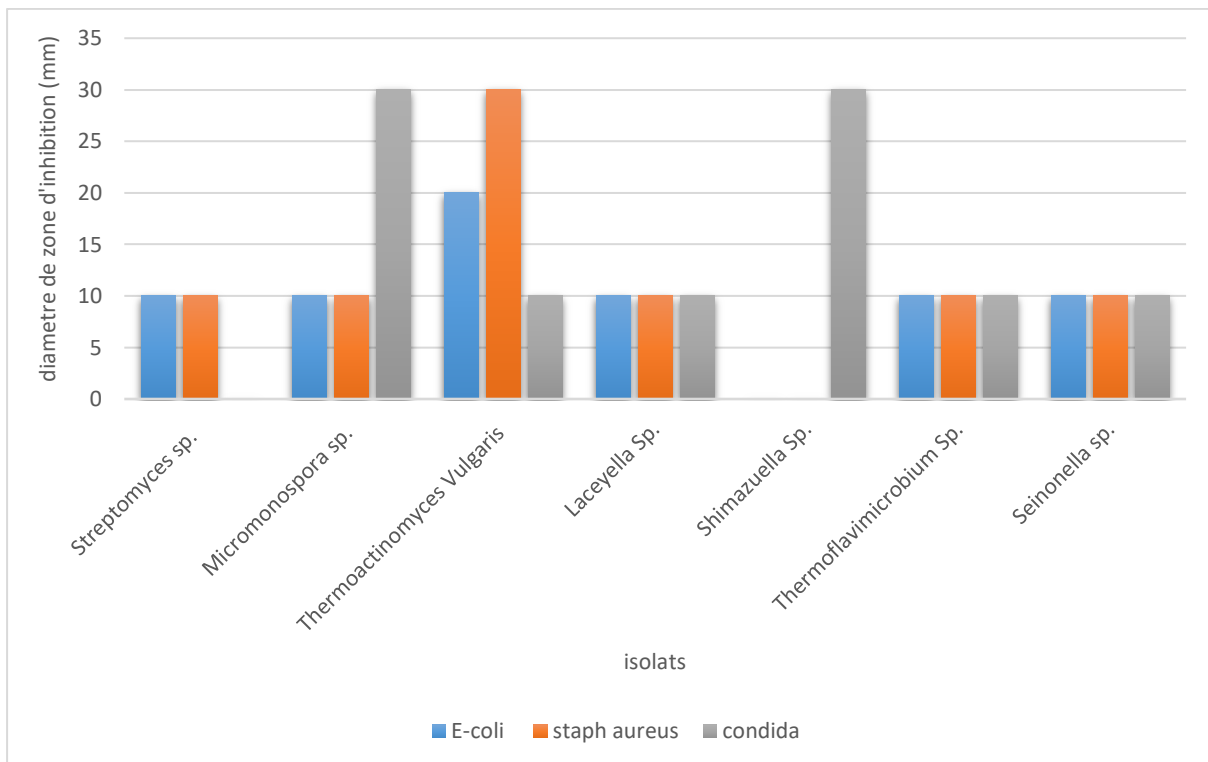


Figure 9 Activité antimicrobienne des isolats vis-à-vis des souches pathogènes, ou potentiellement pathogènes.

Le pouvoir d'inhibition est observé chez toutes les soixante-quatre (64) souches avec des proportions différentes dont le genre *Shimazuella sp.* a un effet létal vis-à-vis *E. coli* et *S. aureus* alors qu'il inhibe la croissance de *C. albicans* partiellement par contre les *streptomyces sp.* ont un effet létal sur cette dernière.

Selon Choulet (2006), dans 16500 antibiotiques connus, 8700 (53%) sont produits par les actinomycètes dont 6550 (40%) par des espèces de Streptomyces.

En plus de la production d'antibiotiques, les actinomycètes produisent un grand nombre d'autres métabolites secondaires dotés d'une large gamme d'activités, tels que des inhibiteurs d'enzymes, immunosuppresseurs, toxines et pesticides (Dairi, 2005 ; Pizzul, 2006).

A retenir

La première étape de travail : nous avons pris des échantillons d'argile dans les sources thermales de Serguine et de Bouhanifia, et nous avons établi une collection de 64 souches de bactéries. Les milieux de cultures sur lesquels sont isolées les souches nous ont permis d'étudier une large panoplie de microorganismes qui appartiennent à plusieurs groupes taxonomiques (*Archaea*, *Firmicutes*, *Deinococcus-Thermus*, *Actinomycetales*, etc).

Selon Bergey's manuel (2009,2012), les souches isolées sont réparties sur les six genres suivants : *Streptomyces sp.*, *Micromonospora sp.*, *Thermoactinomyces sp.*, *Laceyella Sp.*, *Shimazuella Sp.*, *Thermoflavimicrobium Sp.*, *Seinonella sp.*

Après avoir procédé aux observations macroscopiques et microscopiques, nous avons pu constater que les souches isolées sont séparées en deux principaux groupes à caractères phénotypique. Un groupe est composé essentiellement de thermophiles et d'acidophiles à Gram positif mais qui peut donner une coloration négative, ils sont également décrits comme aérobies facultatifs ou obligatoires, endosporogènes. Un autre groupe est constitué d'un ensemble d'isolats aux caractères dispersés dont le nombre de tests déjà effectués ne nous a pas permis de les séparer, donc cela nécessite un plus grand nombre de tests phénétiques qui donnerait une meilleure distinction entre les isolats. Sur l'ensemble des phénons, la croissance des souches s'est produite dans une température optimale située entre 45°C et 55°C, donc on peut les qualifier selon la classification par Stetter (1996) de thermophiles modérés. Le terme de « thermophile » (température-tolérant) a été inventé par Wiegel (1990), pour désigner ce type de microorganismes. Et l'exemple à cela est donné par les isolats thermophiles de l'antarctique, dont leur température optimale de croissance est de 65°C mais qui peuvent se développer aussi à 3°C (Logan et Allan, 2008).

L'ensemble des souches cultivées sont neutrophiles (pH optimum entre 7,0 et 7,5) sauf certaines qui peuvent de développer sur une large gamme de pH. La croissance de l'ensemble des isolats ne requiert pas la présence de NaCl mais leur halotolérance est variable, et peut aller jusqu'à 12% (p/v) de NaCl.

La plupart des isolats sont oxydase et catalase positives et environ une trentaine forment des endospores ; cela ressemble aux isolats bactériens aérobie et anaérobie facultatives thermophiles (Dinsdale *et al.*, 2001 ; Nazina *et al.*, 2001). Généralement les bactéries aérobie formatrices d'endospores connues sont chimioorganotrophes qui appartiennent à différents groupes phylogénétiques. Elles peuvent croître sur des milieux fréquemment utilisés comme la gélose nutritive ou la gélose trypticase soja. Par contre, certains isolats ont une croissance médiocre sur ces milieux de culture « standards », ils ne s'y adaptent pas (pH, salinité, composition du milieu), parce qu'ils sont issus des environnements pauvres en nutriments, comme les sources chaudes terrestres (Logan et Allan, 2008).

Des études ont été faite auparavant ont montré que les bactéries thermophiles peuvent utiliser le glucose et/ou les sucres fermentescibles comme unique source de carbone et d'énergie et y croître. Cependant, les bactéries thermophiles hétérotrophes assimilent mal les composés organiques, comparativement à leurs contreparties mésophiles, ce constat peut s'expliquer par les différentes adaptations provoquées par les restrictions de leurs milieux naturels.

La diversité des organismes présents dans cet environnement n'est pas dû uniquement au facteur de la température mais à d'autres facteurs tel la composition minérale, organique et la localisation géographique des sites géothermaux. Parmi les souches isolées, 60 sont productrices d'enzymes hydrolytiques extracellulaires. Les souches productrices d'enzymes à 55°C, sont caractérisées par l'activités protéolytiques et amylolytique avec une forte utilisation de la gélatine. Quant aux activités lipolytiques et, elles sont moins fréquentes.

Le bagage enzymatique des microorganismes est directement influencé par la disponibilité des nutriments dans l'environnement direct, et fait partie de l'adaptation de ces microorganismes à leur milieu naturel. Autre point important, il semble qu'une plus grande adaptabilité de certaines souches aux conditions de température, de pH et de salinité a une relation avec la capacité de ces mêmes souches à produire des enzymes extracellulaires : une plus grande capacité d'adaptation implique des mécanismes métaboliques plus développés, comparativement à des organismes qui en sont dépourvus (Cohen, 2011).

Ces derniers seront confrontés à un milieu moins favorable, lorsqu'ils sont exposés aux mêmes conditions environnementales.

Les bactéries thermophiles ont développé une variété de stratégies moléculaires pour survivre aux conditions environnementales extrêmes. Pour l'utilisation des substrats naturels, l'amidon par exemple, un nombre de bactéries thermophiles, produisent une gamme d'enzymes amylolytiques (α -amylase, α -glucosidase, glucoamylase, pullulanases, cyclodextrine glycosyltransferase). Elles sont également capables de dégrader d'autres polysaccharides, tels que le glycogène, fourni par des cellules animales ou microbiennes (Bertoldo et Antranikian, 2001), les composés polyphénoliques, les n-alcanes, et même certains polymères synthétiques comme le plastique (Pinzón-Martínez *et al.*, 2010).

Tous les isolats ont une activité antibactérienne contre *E.coli* et *S.aureus* et une activité antifongique contre *C. albicans*. La principale raison derrière l'engouement pour les actinomycètes vient de leur capacité de synthétiser nombreux métabolites d'intérêt biotechnologique. Les métabolites secondaire produits par les actinomycètes présentent un grand nombre d'effets biologiques diverses, d'abord des activités antimicrobiennes (Demain, 2009). Les métabolites secondaires produits par les actinomycètes révèlent des activités biologiques variées tel qu'antibactériennes, antifongique, antiviral, anticancéreux, anti protozoaires, anti cholestérol. Ce groupe de composés forme un assemblage hétérogène des molécules biologiquement puissantes avec diverses structures et mécanismes d'action. La découverte des agents antimicrobiens des actinomycètes a mené à une percée dans le monde de la médecine, en raison de leur assistance précieuse pour sauver l'homme de maladies infectieuses. (McDermott *et al.*, 1947).

Environ 75 % des antibiotiques sont produits par les actinomycètes. La diversité en structure de ces antibactériens est responsable de leurs activités antimicrobiennes de large spectre et diverse mécanisme d'action. Ils ont montré une forte puissance contre un grand nombre d'organismes Gram-positives et Gram négatives.

« La terre d'où nous venons — où nous retournerons — la terre d'où vient tout ce qui vit — où retourne tout ce qui meurt — la terre qui reçoit la mort et donne la vie. » (Dextreit, 1997).

L'argile est un moyen extraordinaire que nous offre la nature pour soigner de nombreuses affections. Elles ont des compositions chimiques fort variables qui permettent des applications thérapeutiques particulières.

L'objectif de notre étude est de réaliser une caractérisation microbiologique d'argiles récupérées de deux (2) sources thermales celles de hammam Serguine et de hammam Bouhanifia (les températures mesurées au niveau des points d'émergence d'eau chaude varient entre 20°C et 70°C), par un criblage de plusieurs activités extracellulaires.

Les souches d'argile sont isolées et purifiées dans six milieux de cultures différents.

Les isolats purs ont subi une caractérisation de type phénotypique, physiologique et biochimique, suivie par un dépistage d'activités enzymatiques et antimicrobienne.

Les résultats recueillis nous ont permis de conclure que la caractérisation microbiologique de l'argile des sources thermales a révélé que :

- Les soixante-quatre souches isolées sont des thermophiles (température optimale est de 45° à 55°C) qui se présentent sous forme de bâtonnets à Gram positif ;
- Elles sont physiologiquement et biochimiquement différentes mais partagent quelques caractères comme la capacité de croissance en présence de NaCl (9%), à des températures de 55 à 65°C et à pH neutre mais dont l'intervalle est large pour la plupart des isolats [5-10]
- La plupart des souches sont mobiles possédant une cytochrome oxydase et une catalase. Elles sont H₂S et CO₂ négatifs.
- Les souches obtenues appartiennent aux genres suivants : *Streptomyces sp.*, *Micromonospora sp.*, *Thermoactinomyces sp.*, *Laceyella Sp.*, *Shimazuella Sp.*, *Thermoflavimicrobium Sp.* et *Seinonella sp.*

Elles possèdent une activité antimicrobienne importante vis à vis des souches pathogènes, ou potentiellement pathogènes ; la médecine traditionnelle pourrait apporter une réponse thérapeutique. Les remèdes à base de produits naturels (l'argile) constituent une alternative dans

les systèmes de soins primaires et donc une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés.

Sur le plan de la production d'enzymes, il est intéressant de signaler que parmi les souches sélectionnées, 60 souches possèdent des activités hydrolytiques combinées, d'où leur importance biotechnologique.

Cette contribution à l'étude phénotypique et la mise en évidence d'activités enzymatiques extracellulaires des souches bactériennes isolées d'environnements thermaux algériens tel hammam Serguine et hammam Bouhanifia a donné des résultats très encourageants qui devront être complétés par une analyse polyphasique plus approfondie en introduisant de la chimiotaxonomie couplée à l'approche moléculaire.

Nous comptons identifier complètement les 64 souches sélectionnées par études physiologiques complète (cinétique), et phylogénétiques, pour confirmer les espèces appartenant ces genres. En plus, vu l'importance des souches sur le plan de la production d'enzymes extracellulaires et qui ont peut-être un potentiel biotechnologique, la purification de ces enzymes constitue une autre excellente perspective.

A

Adrienne P. (2003) *L'argile, médecine ancestrale de la tradition aux preuves scientifiques*, éditions Amirys

Akoua Koffi C., Guessennnd N., Gbonon V., Faye-Kette A. Y. H., Dosso M. (2004) Methicillinresistant of staphylococcus aureus in Abidjan. A new hospital problem. *Medicines et maladies infectieuses*; 34 (3) pp. 132-136

Antranikian G. (2009) Extremophiles and Biotechnology in: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester; P: 1-5.

B

Bastide A. M., Méo M., Andriantsoam M., Duménial G. (1986) Isolement et selection de souche d'Actinomycetes productrice de substance antifungiques de structure non-polynique. *Laboratoire de microbiologie. Faculté de pharmacie. MIRCEN journal*; p 453-466.

Benbachir M., Benredjeb S., Boye C. S., Dosso M., Belabbes H., Kamoun A., Kane O., Elmdaghri N. (2001) Two-year surveillance of antibiotic resistance in streptococcus pneumonia in four African cities. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* ; 45 (2) pp. 627-629.

Bertoldo C., Antranikian G. (2001) Amylolytic enzymes from hyperthermophiles. *Methods., Enzymol.*, 330:269-289.

Burgess S.A., Lindsay D., Steve H. Flint S.H. (2010) Thermophilic bacilli and their importance in dairy processing. *Intern. J. of Food Microbiol.*, 144:215-225.

C

Canganella F., Wiegel J. (2011) Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond. *Natur wissenschaften*; 98:253-279.

Cohen G.N. (2011). *Microbial Biochemistry*, 2nd Edition. New York: Springer. 545pp.

Cousin N. (2013) *Argile*. éditions Eyrolles

Coyne L. (1984) Evidence found supporting mineral origins of life theory, NASA activities, Volume 15 à 16.

D

Dairi T. (2005) Studies on Biosynthetic Genes and Enzymes of Isoprenoids Produced by Actinomycetes. *J. Antibio*, 58 (4), 227-243.

Demain A.L. et Lancini G. (2006) Bacterial pharmaceutical products in procaryotes 1, 812-833.

Demirjian D.C., Shah P.C., Moris-Varas F. (1999) Screening for novel enzymes. Topics Curr. Chem., 200:1-29.

Dextreit R. (1997) *L'Argile qui Guérit*. Labège: Éditions Vivre en Harmonie

Dinsdale A.E., Halket G., Coorevits A., Van Landschoot A., Busse

H.J., De Vos P., Logan N.A. (2011). Emended descriptions of *Geobacillus thermoleovorans* and *Geobacillus thermocatenulatus*. Int. J. of Syst. and Evo. Microbio., 61, 1802–1810.

Duckworth A.W., Grant W.D., Jones B.E., Van Steenberg R. (1996) Phylogenetic diversity of soda lake alkaliphiles. F.E.M.S Microbiol. Ecol., 19:181-191

F

Frazier W.C. (1926) A method for the detection of changes in gelatin due to bacteria. J. Infect. Dis. 39:302-309.

Villieras F. (2008) *Argiles : histoire d'avenir*. Éditions Récréateurs.

G

Goodfellow M., Jones A.L. (2009) *Thermoactinomycetaceae* in Bergey's manual of systematic bacteriology 2nd Edition; Volume 3: The Firmicutes. Ed. De Vos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H., Whitman W.B. P:144-461. Springer, New York.

Goodfellow. M. Actinobacteria phyl. Nov. In: Whitman W.B, Goodfellow .M, Kämpfer. P, Busse H-J, Trujillo M.E, Ludwig. W, Suzuki. K.l, Parte A (eds). Bergey's Manual of systematic Bacteriology. Vol 5: 2nd edn .The actinobacteria part B. Springer, New York.; p: 33-34.

Gordonr E., Haynesw C., Pang C.H.N. (1973) The Genus *Bacillus* (Agricultural Handbook no. 427). Washington DC: United States Department of Agriculture.

H

HARLEY J.P., PRESCOTT L.M. (2002) Laboratory Exercises in Microbiology, 5th Ed., 449P.

Hernot F. (2016) *L'argile, son utilisation a l'officine*. Université Angers : France.

J

Hower J., Mowatt T. C. (1900) *The mineralogy of illites and mixed-layer illite/montmorillonites*. American Mineralogist, vol. 51, no 5-6,

Joffin J.N., Leyral G. (2006) Microbiologie technique, tome 1 : dictionnaire des techniques 4ème édition. 361P.

K

Kacou-N'Douba A., Bouzid S. A., Guessenned K. N., Kouassi M. Bengue A. A., Faye-Kette A.Y. H. Dosso M. (2001) Antimicrobial resistance of nasopharyngeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* in health carriers/ report of a study in 5-year-olds in marcory; Abidjan Côte d'Ivoire. Annals of Tropical Paediatrics: International child health; 21 (2) pp.149-15

Krulwich T.A., Guffanati A.A. (1989) Alkaliphilic bacteria. Ann. Rev. Microbiol., 43:435-463.

L

Larsen, H. (1986) Halophilic and halotolerant microorganisms: an overview and historical perspective, F.E.M.S. Microbiol. Rev., 39: 3-7.

Lechevalier H.A. (1974) Distribution et rôle des actinomycètes dans les eaux. Bull. Inst. Pasteur, Paris, 72, 159-175.

Lewinson O., Padan E., Bibi E. (2004) Alkalitolerance: A biological function for a multidrug transporter in pH homeostasis. P.N.A.S; 101 (39): 14073-14078.

Liewig N., Rautureau M. et Gomes L. (2012) Les argiles et la santé humaine: d'hier à aujourd'hui. Etude et Gestion des Sols, Association française pour l'étude des sols. 19 (3-4), pp.267-277.

Logan N.A., Allan R.N. (2008) Aerobic, endospore-forming bacteria from Antarctic geothermal soils in microbiology of extreme soils. Soil Biology; 13: 155-173.

Logan N.A., Berge O., Bishop A.H., Busse H.J., De Vos P., Fritze D., Heyndrickx M., Kaampfer P., Salkinoja-Salonen M.S., Seldin L., Rabinovitch L., Ventosa A. (2009) Proposed minimal standards for describing new taxa of aerobic, endospore-forming bacteria. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 59:2114-2121.

Logan N.A., Halket G. (2011) Developments in the Taxonomy of Aerobic, Endospore-forming Bacteria in Endospore-forming Soil Bacteria, Soil Biology; 27: 1-29.

M

- Marchant R., Banat I.M., Rahman T.J.S., Berzano M. (2002) The frequency and characteristics of highly thermophilic bacteria in cool soil environments. *Env. Microbiol.*, 4:595-602.
- McDermott W, Muschenheim C, Hadley SJ, Bunn PA. (1947) Streptomycin in the treatment of tuberculosis in humans. *Annals of Internal Medicine.*; 27:769-822.
- McKinney. R.E. (2004) Environmental Pollution Control Microbiology. CRC Press : New York. Pp: 448.
- Merabet D., Belkacemi H., Caractérisation minéralogique et chimique du kaolin de Tamazert (Algérie), *Annales de Chimie Science des Matériaux* (Vol. 28, No. 5, pp. 61-83). No longer published by Elsevier, octobre 2003.
- Mesbah N.M., Wiegel J. (2008). Life at extreme limits. The anaerobic halophilicalkali thermophiles. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1125:44-57.
- Michael Goodfellow, Chairman, Peter Kämpfer, Vice Chairman, Paul De Vos, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer And William B. Whitman With Contributions From 165 Colleagues
- Minana-Galbis D., Pinzo D.L., Lore J.G., Manresa A., Oliart-Ros R.M. (2010) Reclassification of *Geobacillus pallidus* as *Aeribacillus pallidus* gen. nov., comb. nov. *Int. J. of Syst. and Evo. Microbio.*, 60:1600-1604.
- Mohamed Boughlali.(2003) THERMALISME ET THALASSOTHÉRAPIE EN ALGÉRIE. *Presse therm climat* 2003; 140: 161-165
- Moore D. M., Reynolds R. C.: X-ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals. Vol. 378. Oxford: Oxford university press, 1989.

N

- Nazina T.N., Tourova T.P., Poltarus A.B., Novikova E.V., Grigoryan A.A., Ivanova A.E., Lysenko A.M., Petrunyaka V.V., Osipov G.A., Belyaev S.S., Ivanov M.V. (2001) Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermoglucosidasius* and *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G. thermocatenulatus*, *G. thermoleovorans*, *G. kaustophilus*, *G. thermoglucosidasius* and *G. thermodenitrificans*. *Int., J., Syst., Evol., Microbiol.*, 51:433-446.
- Niehaus F., Bertoldo C., Kahler M., Antranikian G. (1999) Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 51: 711-729.

O

Orcel J., Caillère S., Hénin S., Nouvel essai de classification des chlorites, Mineral. Mag, 1950.

Ouali S. les sources thermales en algérie 13/05/2008 page 16-18

P

Pikuta E.V. (2009). The genus *Anoxybacillus* in Bergey's manual of systematic bacteriology 2nd Edition; Volume 3: The Firmicutes. Volume 3: The Firmicutes. Ed. De Vos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H., Whitman W.B. P:134-142. Springer, New York.

Pinzón-Martínez D.L, Rodríguez-Gómez C., Miñana-Galbis D., Carrillo-Chávez J.A., Valerio-Alfaro G., Oliart-Ros R. (2010) Thermophilic bacteria from Mexican thermal environments: isolation and potential applications. Environ. Techn., 31(8-9) 957-966.

Pizzul.L. (2006) Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Actinomycetes. Thèse de Doctorat. Université d'Uppsala (Suède). pp 39

Priest G.F., Fergus G., Goodfellow M., Todd C. (1988) A Numerical Classification of the genus *Bacillus*. J. of general microbiol., 134:1847-1882.

Q

Quérellou J., Guézennec J. (2010) Biotechnologie des extrêmophiles. Editions Tech. Ing. BIO580; P : 1-13.

S

Seurat L. G. et Frémy P. (1937) *Flore de l'afrique du nord* page 313

Segad M., Jonsson B., Åkesson T., Cabane B. (2010) Ca/Na montmorillonite: structure, forces and swelling properties, Langmuir 26.8, pages 5782-5790.

Ségalen P. (1969) Contribution à la connaissance de la couleur des sols à sesquioxydes de la zone intertropicale : sols jaunes et sols rouges. Cah. Orstom, Sér. Pédol, 7(2), pages 225-236.

Sierra G.A. (1957) Simple method for the selection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. Antonie van Leewenhoek; 23:15-22.

Sigurgisladottir S., Konraosdottir M., Jonsson A., Kristjansson J.K., Matthiasson E. (1993) Lipase activity of thermophilic bacteria from icelandic hot springs. Volume 15, Number 4, 361-366.

Stetter K.O. (1996) Hyperthermophilic prokaryotes. F.E.M.S. Microbiol., Rev., 18:149-158.

T

Tholey A., Heinzle E. (2002) Methods for Biocatalyst Screening. Adv. in Biochem. Engin/Biotechn., 74:1-19.

V

Valášková M., Martynkova G. S. (2012) Vermiculite: structural properties and examples of the use. Clay minerals in nature-their characterization, modification and application, InTech, pages 209-238.

Villieras F. (2008) *Argiles : histoire d'avenir*, éditions Récréateurs.

W

Wagner I.D., Wiegel J. (2008) Diversity of thermophilic anaerobes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1125:1-43.

Wang L., Huang Y., Liu Z., Goodfellow M. et Rodriguez C. (2006) *Sreptacidiphilus oryzae* sp. Nov. an actinomycete isolated from rice-field soil in Thailand. In. J. Sys. Ev. Microbiol. Vol 56. Pp: 1257-1261.

Weigel J. (1986) Methods for isolation and study of thermophiles. In: Brock (ed), Thermophiles: General, Molecular and Applied Microbiology; P: 17-37.

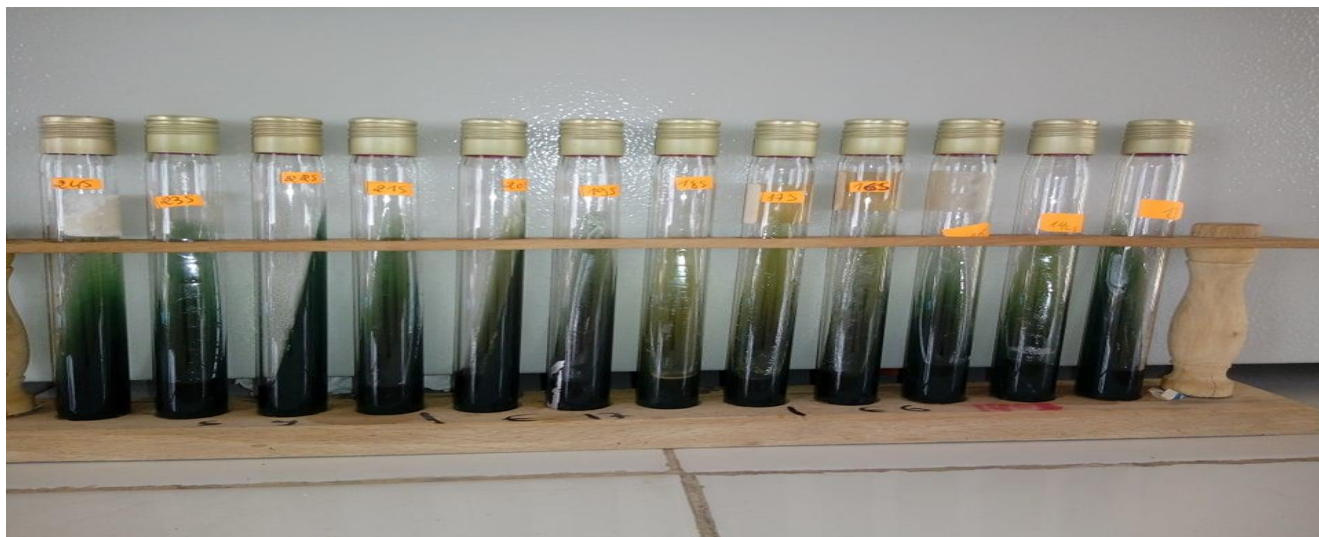
Wiegel J. (1990) Temperature spans for growth: a hypothesis and discussion. F.E.M.S. Microbiol. Rev., 75:155-170.

Y

Yavuz E., Gunes H., Harsa S., Yenidunya A.F. (2004) Identification of extracellular enzyme producing thermophilic bacilli from Balcova (Agamemnon) geothermal site by ITS rDNA RFLP. J. of Appl. Microbiol., 97:810-817.

Annexe 1

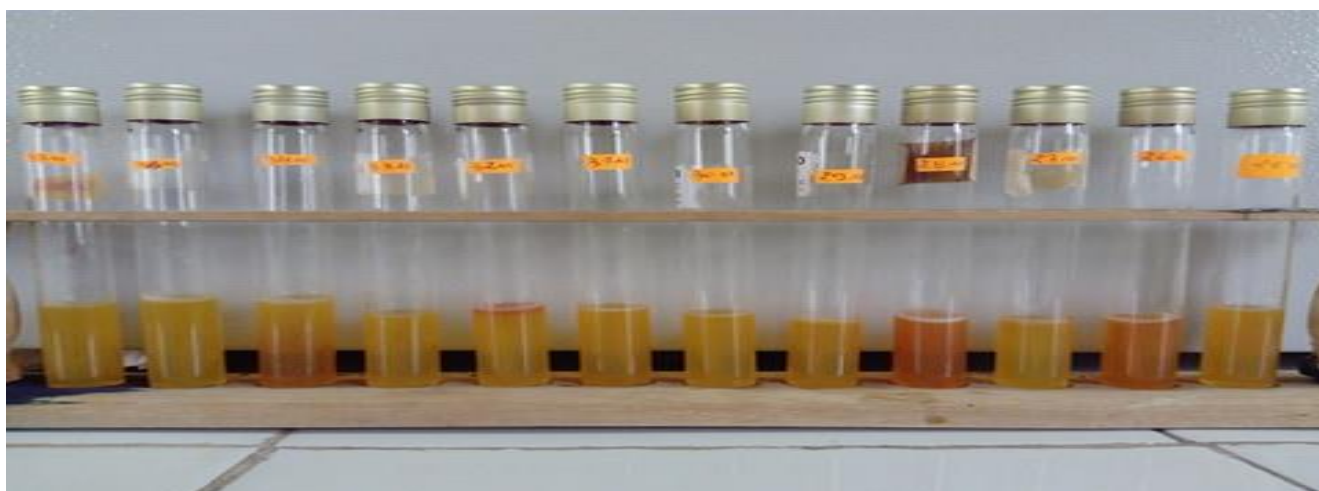
Résultats de test Citrate de Simmons



Résultats de test TSI



Résultats de test Mannitol mobilité



Annexe 2

L'aspect macroscopiques des colonies

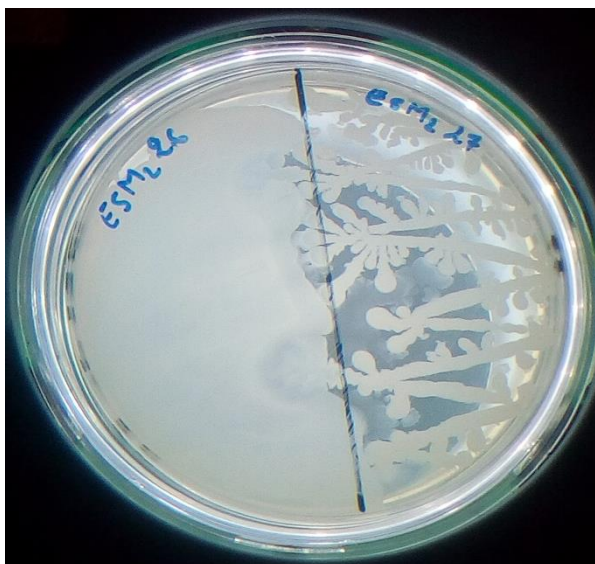
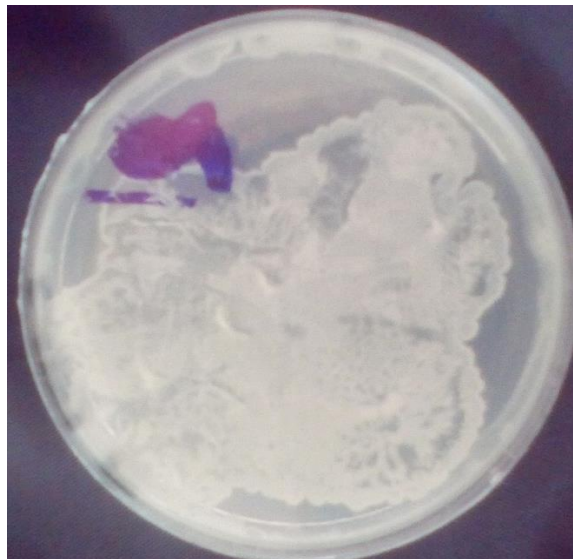


Tableau3. Milieux utilisés pour l'isolement et la purification des souches, à pH 7,4±0,2

	2	3	4	6	Bouillon d'enrichissement
Constituant	Quantités (% p/v, v/v)				
NaCl	0,2			0,5	0,2
NaNO3			0,2		
MgSO4.7H2O			0,05		
MgCl2.6H2O					
KCl			0,05		
Fe2(SO4). 3H2O			0,001		
CaCl2. 2H2O					
NaHCO3					
NaBr					
KH2PO4			0,014		
K2HPO4			0,12		
Na2 SO3					
Glucose					
Amidon soluble		0,1			
Carboxyméthylcellulose					
Huile d'olive					
Tween 20					
Tween 80					
Caséine					
Gélatine					
Extrait de levure	0,4	0,1	0,002	0,25	0,4
Peptone	0,8	0,5		0,5	0,8
Extrait de viande				0,1	
Solution saline					
Agar	1,5	1,5	1,5	1,5	
Eau distillée **	100	100	100	100	100

** l'eau distillée a été remplacée par de l'eau de source filtrée pour les milieux de cultures.

Milieu 2, milieu 3, Milieu 6(Gélose nutritive), milieu 4 (Atlas, 2005), Milieu 1, Milieu 5 sont respectivement milieu gélosé columbia et trepticase de soja sous forme déshydratés.

Tableau 4. Milieux utilisés pour la caractérisation physiologique et biochimique (Harley et Prescott, 2002)

Milieu	Citrate de Simmons pH (7.1 ± 0.2)	Clark et Lubs pH (7.5 ± 0.2)	Urée de Christensen pH (6.8 ± 0.2)	Mannito l- Mobilité pH (7.6 ± 0.2)	TSI pH (7.4 ± 0.2)	Möller exempt d'acides aminés pH (6,8 ± 0.2)	Eau peptonée pH (7.4)
Constituant	Quantités (% p/v, v/v)						
NaCl	0,5		0,5		0,5	0,5	0,2
Ethanol						0,1	
Citrate de sodium	0,1						
Citrate d'ammoniaque ferrique					0,003		
Bleu de bromothymol	0,008						
Bromocrésol pourpre						0,16 x 10 ⁻⁴	
Rouge de phénol			0,0012	0,004	0,0025		
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,1						
KH ₂ PO ₄			0,2				
K ₂ HPO ₄	0,1	0,5					
KNO ₃				0,1			
NH ₄ .H ₂ PO ₄	0,1						
Na ₂ SO ₃					0,03		
Glucose		0,5	0,1		0,1	0,1	
Saccharose					1		
Lactose					1		
Mannitol				0,75			
Peptone de caséine				1			
Urée			2,4				
Extrait de levure						0,3	0,5
Peptone		0,5	0,1		2		0,1
Extrait de boeuf					0,3		
Agar	1,5		2	0,35	1,2		
Eau distillée	100	100	100	100	100	100	100

Tableau 5. Milieux de culture utilisés pour la recherche des activités hydrolytiques extracellulaires, tous les pH sont ajustés à $7,4 \pm 0,2$

Milieu	Amylase	Activités lipolytiques			Protéases	
		Huile d'olive	Tween 20	Tween 80	Caséine	Gélatine
Constituant			Quantités (% p/v, v/v)			
NaCl	0,2		0,2	0,2	0,2	0,2
NaNO3						
MgSO4.7H2O						
MgCl2.6H2O						
KCl						
Fe2(SO4). 3H2O						
CaCl2. 2H2O						
NaHCO3						
NaBr						
KH2PO4						
K2HPO4						
Na2 SO3						
Glucose						
Amidon soluble	1					
Carboxyméthylcellulose						
Huile d'olive		2,5				
Tween 20			1			
Tween 80				1		
Caséine					1	
Gélatine						
Extrait de levure	0,2		0,1	0,1	0,2	0,2
Peptone	0,5		0,2	0,2	0,2-0,4	0,2-0,4
Extrait de viande						
Solution saline						
Agar	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Eau distillée **	100	100	100	100	100	100

Colorants et réactifs (Harley et Prescott, 2002)**Réactif de Barritt (réaction de Vogues Proskauer).**

Solution 1: 6 g d' α -naphthol dans 100 ml d'alcool éthylique à 95%,

Solution 2: 40 g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml d'eau (à conserver au réfrigérateur).

Réactif au rouge de méthyl (Recherche d'acides) (pour 500 ml). 0.1 g de rouge de méthyl dans 300 ml d'alcool éthylique à 95%, compléter jusqu'à 500 ml avec de l'eau distillée.

Colorant au bleu de méthylène (coloration simple). 0,3g de Bleu de méthylène dans 100 ml d'eau distillée.

Réactifs de la coloration de Gram :

- Solution de violet de gentiane : 1 g de violet de gentiane ; 10ml d'alcool éthylique à 95% ; 2g de phénol ajouté à 100ml d'Eau distillée ;

- Solution de lugol de Gram : 1 d'iodure de potassium ; 1g d'iode ajoutés à 300 ml d'eau distillée ;

- Solution de fuschine de ziehl (Guiraud et Galzy, 1980). 1 g de Fuschine ; 10ml d'alcool éthylique à 95% ; 5g de phénol ajouté à 100ml d'eau distillée.

Réactif de Kovacs (pour le test d'indole). 150 ml de N-amyl/isoamyl alcool ; 50 ml d'acide hydrochlorique concentré et 10 g de p-diméthylaminobenzaldéhyde.

Réactif de Frazier (pour le test d'hydrolyse de la gélatine). 15g d' HgCl_2 , 20 ml d' HCl concentré ajoutés à 100 ml d'eau distillée.

Tableau13. Diamètre de zone d'inhibition (mm) introduit par chaque groupe.

Souches	<i>E-coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>
<i>Streptomyces sp.</i>	10±1.6 mm	10±0.8 mm	Pas de croissance
<i>Micromonospora sp.</i>	10±0.2mm	10±0.5mm	30±1.3mm
<i>Thermoactinomyces Vulgaris</i>	20±0.5mm	30±0.2mm	10±0.2mm
<i>Laceyella Sp.</i>	10±0.7mm	10±0.2mm	10±0.4mm
<i>Shimazuella Sp.</i>	Pas de croissance	Pas de croissance	30±0.2mm
<i>Thermoflavimicrobium Sp.</i>	10±0.6mm	10±0.2mm	10±0.5mm
<i>Seinonella sp.</i>	10±0.5mm	10±0.2mm	10±0.3 mm

GLOSSAIRE

(Ramade, 2008)

Autotrophe. Désigne un organisme capable de subvenir à ses besoins métaboliques en utilisant comme seule source de carbone le CO₂ présent dans l'air ou dissous dans l'eau, des matières nutritives exclusivement minérales et en employant comme source d'énergie celle du rayonnement solaire (photosynthèse), ou chez certaines bactéries celle produite par des réactions d'oxydation de composés minéraux (chimiosynthèse).

Biotope. Composante d'un écosystème constituée par ses dimensions physico-chimiques et spatiales.

Chimolithotrophe. Organisme qui tire son énergie métabolique de phénomènes d'oxydoréduction à partir de substrats inorganiques servant de donneurs d'électrons.

Compost. Mélange de matières organiques et végétales utilisé comme engrais.

Hétérotrophes (chimioorganotrophes). Ensemble des organismes dont la nutrition nécessite des substances biochimiques afin de produire leur énergie cellulaire. Il réunit à la fois les décomposeurs (bactéries et champignons) et les animaux. Certains Protistes pourtant pourvus de chloroplastes peuvent être hétérotrophes si les conditions écologiques conviennent.

Isolat. Population séparée des autres populations de la même espèce par une barrière géographique et/ou écologique et dont de ce fait les individus se reproduisent entre eux.

Niche écologique. Place et spécialisation d'une espèce à l'intérieur d'un peuplement. Elle correspond à l'ensemble des paramètres qui caractérisent les exigences écologiques (climatiques, alimentaires, reproductives, etc.) propres à une espèce vivante et qui la différencient des espèces voisines d'un même peuplement. Une confusion fréquente est faite entre niche écologique et habitat. Ce dernier correspond aux emplacements particuliers où l'espèce considérée se rencontre. La niche, elle, représente la fonction de l'espèce dans un écosystème.

Organotrophe. Organisme qui obtient son énergie métabolique à partir de matières, organiques. Ils sont confondus à tort avec les hétérotrophes. En effet, certaines bactéries phototrophes, tout en étant capables de photosynthèse, sont organotrophes.

Phylogénie. Etude des relations de parentés entre différents êtres vivants en vue de comprendre l'évolution des organismes vivants.

Screening. Tout test utilisé afin de détecter la présence d'un agent donné dans un large nombre de spécimens, de tels tests sont typiquement simples et peu coûteux mais ne sont pas complètement spécifiques. Un certain pourcentage de faux tests positifs peut être toléré comme screening positif mais doivent être relayés par d'autres tests plus spécifiques. Une autre définition interprète ce terme comme étant tout test qui permet d'assigner un organisme inconnu à un possible rang taxonomique.

Souche. Une souche bactérienne est constituée par une succession de cultures dérivées d'une culture pure la culture pure (la formation d'une colonie isolée) est le plus souvent inconnu. Une souche n'est pas obligatoirement un clone (population de cellules dérivée d'une unique cellule).

Taxon. Groupe taxonomique (systématique) de rang varié qui est représenté par l'ensemble des entités qui répondent à des caractéristiques communes. Un taxon est constitué par la réunion des diverses populations et, si c'est le cas, d'unités taxonomiques de rang inférieur, dont l'ensemble présente des caractéristiques suffisamment distinctes des autres groupes voisins pour qu'il soit érigé en un groupe séparé.

Tween (20, 60, 80...). Ou esters de sorbitan, agents tensioactifs non ionique connus et très fréquemment utilisés en chimie et en biologie, mais on utilise aussi des esters de saccharose. Ces membres de la famille des esters de sucre sont constitués d'un groupement osidique hydrophile et d'une chaîne grasse hydrophobe.

Phénon (singulier et pluriel phéna, souvent écrit « phénons »). Unité morphologique minimale, non divisible, constituée d'individus, utilisée pour étudier la spéciation.