

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 :

Laidi Fatima

Midoun Samia

Harizi Ahlem

Thème

**Etude du pouvoir adhésif de quelques souches  
bactériennes thermotolérantes**

Soutenu publiquement le .....

Jury:		Grade
Président:	Mr. ABBES M. A.	MCA
Encadreur:	M <sup>elle</sup> ABDI F. Z.	
Examineur :	Mr. YEZLI W.	MCA

Année universitaire 2019-2020

## Remerciements

- ❖ *Avant tout, louange à «Allah», notre créateur et maître de l'univers, de toutes ces beautés, s'avoir envoyé à nous tout le prophète "Mohamed" qui doit être notre premier éducateur, puis de nous avoir donné tout le Courage pour terminer ce travail de recherche.*
- ❖ *Nous tenant tout d'abord à remercier notre encadrant **Melle ABDI FATIMA ZOHRRA**, pour la confiance qu'ils nous ont accordé en nous proposant ce mémoire. En plus de son enthousiasme, de ses encouragements et de sa pleine disponibilité durant ce travail.*
- ❖ *Nous tenant aussi à remercier :*
- ❖ *Nos vifs remerciements aux membres du jury Mr. ABBAS et Mr. YEZLI avec qui nous allons soutenir ce mémoire et juger de sa qualité.*
- ❖ *Nous remercions chaleureusement nos familles respectives pour toute l'aide et soutien, moral et économique, qu'ils nous ont apporté tout au long de nos études. Nous espérons être à la hauteur de leurs espérances et nous montrer dignes de leurs confiances et de leurs encouragements.*
- ❖ *Nous adressons nos remerciements chaleureusement à tous nos enseignants en générale et du SNV en particulier, qui nous ont enseignés au cours du cursus universitaire.*
- ❖ *Et tout cela grâce à tous les l'ingénieurs de laboratoire d'hygiène et pathologie Animale à l'Université de Tiaret.*
- ❖ *Et pour finir, un dernier remerciement à tous nos collègues et amis de la promotion microbiologie appliquée 2019-2020 de l'université Ibn Khaldoune, pour leurs soutiens et aide et tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail tout en leurs souhaitons un avenir plein de de réussite.*
- ❖ *Tous nos respects au regretté professeur **Benaichata***

*Fatima, Ahlem, Samia*

# Dédicace

❖ *A l'aide de DIEU tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

♥ *À mes parents* ♥

♥ *Laidi Othmane, Hachemi Aouda* ♥

❖ *A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral, celui qui s'est toujours sacrifié pour nous voir réussir, que Dieu te garde pour nous, à toi mon père.*

❖ *A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur ; maman  
Que je l'adore*

*À ma chère sœur*

♥ *Amel* ♥

*À mes chers frères*

♥ *Youcef, Bachir, Younes, Yacine* ♥

*A mes chères amies surtout*

♥ *Fatima, Assma, Latifa, Zouzou, Denia, Kheria, Hanan, nouria, nissrine Hadjer,  
nawel* ♥

*A mes chers trinômes*

♥ *Samia, Ahlem* ♥

♥ *À mes grands-parents et grands-mères* ♥

❖ *À tous les membres de ma famille*

❖ *Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

❖ *À toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.*

❖ *À tous ceux qui m'aiment*

*Fatima*

# Dédicace

❖ *Nous remercions DIEU qui a bien voulu nous donner le courage, la force, la volonté, et la patience pour effectuer ce modeste travail.*

❖ *Nous dédions ce travail à :*

## *À mes parents*

♥*Harizi Kada, Beghache Fatima*♥

❖ *Je dédie ce travail à ma chère mère Fatima, qui a été mon premier modèle et ma principale motivation dans ma réussite.*

❖ *Je dédie aussi ce travail à mon cher père Kada, qui a été la source nécessaire pour terminer mes études, lui seul le guide de ma vie.*

## *À mes chers frères*

♥*Ahmed, Bouziane et Hathim, à mes grands-parents et grands-mères.* ♥

❖ *À mes parents et proches et tous la famille Harizi, Baghache.*

## *À mes chères amies*

♥*Samiha, Sara et Saida*♥

## *Mes partenaires dans ce travail*

♥*Samia et Fatima*♥

❖ *À tous les professeurs de l'université des sciences et de la nature et de la vie à tous nos collègues et amis de la promotion microbiologie appliquée 2019-2020.*

*Ahlem*

# Dédicace

❖ *Nous remercions DIEU qui a bien voulu nous donner le courage, la force, la volonté, et la patience pour effectuer ce modeste travail.*

❖ *Nous dédions ce travail à :*

♥ *À mes parents* ♥

♥ *Midoun Abed, Safi Fatiha* ♥

❖ *Je vous remercie pour tous que vous avez consentis pour mon éducation, ainsi que vos conseils et votre soutien permanent.*

❖ *Que Dieu vous garde et vous procure santé, bonheur, Prospérité et longue vie.*

*À ma chère sœur*

♥ *Chourouk* ♥

*À mes chers frères*

♥ *Ali, Rafik, Yacine Mohamed* ♥

*À mes chères amies*

♥ *Zineb Djilali, Zahira Kassi, Fatima Guenouni, Amina Abed, Maroua Nuidjem* ♥

*À mon cher mari*

♥ *Mamouni Oussama* ♥

*À mes chers trinômes*

♥ *Fatima, Ahlem* ♥

♥ *À mes grands-parents et grands-mères.* ♥

❖ *À tous les membres de ma famille Midoun, Safi, Khalifa et Mamouni, petits et grands.*

❖ *Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*Samia*

## Liste des abréviations

**VF** : Milieu Viande-foie

**TSI** : Triple Sugar Iron

**ONPG** : Ortho-nitrophényl- $\beta$ -galactoside

**ODC** : Ornithine-Décarboxylase

**LDC** : Lysine-Décarboxylase

**ADH** : Arginine-Dihydrolase

**MATH**: Microbial Adhesion to Hydrocarbure

**EPS**: Exopolysaccharide

**Ox**: Test oxydase

**Cat**: Test catalase

**Glu**: glucose

**Lac**: lactose

**Sacc**: saccharose

**H<sub>2</sub>S**: Sulfure d'hydrogène

**S1**: souche1

**S2**: souche2

**S3**: souche3

**S4**: souche4

**+**: test positive

**-**: test négative

**H<sub>2</sub>O**: eau

**CO<sub>2</sub>**: Dioxyde de Carbone

**PH**: potentiel d'hydrogène

**T°**: température

**DO**: densité optique

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Etapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien.....	<b>04</b>
<b>Figure02:</b> source thermale de Sergine.....	<b>06</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau n°01 :</b> Résultats d'identification morphologique.....	<b>17</b>
<b>Tableau n°02 :</b> Résultats d'identification biochimique.....	<b>20</b>
<b>Tableau n°03 :</b> Résultats d'adhérences des bactéries sur tube de verre .....	<b>21</b>
<b>Tableau n°04 :</b> Résultats d'évaluation de l' hydrophobicité des souches par la méthode de MATH. ....	<b>22</b>

# ***Résumé***

## **Résumé**

Les bactéries thermophiles sont des microorganismes ayant besoin d'une température élevée pour se développer. L'ensemble des données montrent que la formation de biofilm se fait essentiellement par la production des EPS.

Dans ce travail, nous avons étudié la capacité d'adhésion de certaines bactéries thermotolérantes isolées à partir de l'argile de Hammam Sergine l'année passée (quatre souches).

Pour la réalisation de ce travail, nous avons adopté deux méthodes : adhérence sur tube en verre et la technique de MATH.

Nos résultats sont les suivants : les quatre souches ont une forte adhésion sur tube verre, avec une hydrophobicité élevée, l'adhésion sur un support solide a une relation directe avec la production des EPS de surface

**Mots clés :** pouvoir adhésif, biofilm, hydrophobicité, bactérie thermotolérants, source thermale.

## **Abstract**

Thermophilic bacteria are microorganisms that need a high temperature to grow. All the data show that biofilm formation is mainly done by the production of EPS.

In this work, we studied the adhesion capacity of certain thermotolerant bacteria isolated from Hammam Sergine clay last year (four strains).

To carry out this work, we adopted two methods: adhesion on glass tube and the technique of MATH.

Our results are as follows: the four strains have a strong adhesion on glass tube, with high hydrophobicity, adhesion on a solid surface has a direct relationship with the production of surface EPS

In this work, we dealt with the study of the adhesion capacity to certain thermotolerant bacteria isolated from Hammam Sergine clay last year (four strains).

Our results are as follows: the four strains have a strong adhesion on glass tube, the four strains are hydrophobic (high hydrophobicity), and the adhesion on a solid support has a direct relation to the production of surface EPS, the hydrophobicity surface influence directly on bacterial adhesion.

**Key-words:** adhesive power, biofilm, hydrophobicity, thermotolerant bacteria, thermal source.

## ملخص

البكتيريا المحبة للحرارة هي عضيات تحتاج إلى درجة حرارة عالية لتنمو. تظهر جميع البيانات أن تكوين الأغشية الحيوية لهذه الكائنات يتم بشكل أساسي من خلال إنتاج السكريات ، والتي تشارك في التحكم في الأنشطة الخلوية المختلفة مثل الالتصاق.

تناولنا في هذا العمل دراسة قدرة الالتصاق لبعض البكتيريا المقاومة للحرارة المعزولة من طين حمام سبرجين العام الماضي (أربعة سلالات).

نتائجنا كالتالي: السلالات الأربعة لها التصاق قوي على الأنبوب الزجاجي ، السلالات الأربعة كارهة للماء (مقاومة عالية للماء) ، الالتصاق على دعامة صلبة له علاقة مباشرة بإنتاج السكريات السطحي ، الكراهية للماء تأثير السطح مباشرة على التصاق البكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** قوة التصاق ، الأغشية الحيوية، كارهة للماء ، بكتيريا مقاومة للحرارة ، مصدر حراري.

# ***Table de matière***

## *Table de matière*

**Remerciement**

**Dédicace**

**Liste de l'abréviation**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Résumé**

**Introduction générale..... 01**

### **Chapitre 01 : Synthèse bibliographique**

<b>I.</b>	Les eaux thermales.....	<b>02</b>
<b>II.</b>	Définition de biofilm.....	<b>02</b>
<b>III.</b>	Les étapes de la formation d'un biofilm.....	<b>02</b>
<b>IV.</b>	L'impact de biofilm.....	<b>04</b>

### **Chapitre 02 : Partie expérimentale**

#### **1. Matériel et méthodes**

<b>1.1</b>	Objectif du travail.....	<b>05</b>
<b>1.2</b>	Présentation de la source thermique étudiée.....	<b>05</b>
<b>1.3</b>	Origine des souches utilisées.....	<b>06</b>
<b>1.4.1</b>	Identification des bactéries isolées.....	<b>06</b>
•	Revivification et purification des souches.....	<b>06</b>
<b>1.4.2</b>	Identification morphologique.....	<b>07</b>
1.4.2.1	Caractères macroscopique.....	<b>07</b>
1.4.2.2	Caractères microscopique : coloration de gram.....	<b>07</b>
<b>1.4.3</b>	Identification biochimique.....	<b>08</b>
1.4.3.1	Mise en évidence des enzymes respiratoires.....	<b>08</b>
1.4.3.2	Caractérisation du type respiratoire.....	<b>09</b>
1.4.3.3	Utilisation de substrat carboné.....	<b>10</b>
a.	Utilisation du citrate.....	<b>10</b>
b.	Test mannitol Mobilité.....	<b>11</b>
c.	Utilisation des sucres sur milieu Triple Sugar Iron (TSI).....	<b>12</b>
1.4.3.4	Recherche de la B. Galactosidase.....	<b>13</b>
1.4.3.5	Dégradation des acides aminés.....	<b>14</b>

<b>1.5</b>	<b>L'évaluation de l'adhérence de nos souches est une indispensable.....</b>	<b>15</b>
<b>1.5.1</b>	<b>Adhérence sur tube de verre.....</b>	<b>15</b>
<b>1.5.2</b>	<b>Méthode MATH.....</b>	<b>15</b>

## **Chapitre 03 : Résultats et discussions**

<b>1</b>	<b>Identification des bactéries isolée</b>	
1.1	Identification morphologique.....	16
1.2	Identification biochimique.....	17
<b>2</b>	<b>Evaluation de pouvoir adhésif des souches bactérienne thermo tolérants.....</b>	<b>21</b>
a)	Adhérence sur tube de verre.....	21
b)	Résultats d'évaluation d'adhérence par la méthode MATH.....	22
•	Discussion générale.....	22
	<b>Conclusion.....</b>	<b>26</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>28</b>
	<b>Annexe.....</b>	<b>34</b>

***Introduction***  
***Générale***

## Introduction

Hamam a de tout temps fait partie de notre vie quotidienne, que ce soit comme lieu d'hygiène ou de purification à travers l'eau, mais aussi comme un endroit de détente et parfois de fêtes familiales. La fréquentation de source thermale, en plus du rôle social joué par le hamam, se fait également dans un but de bénéficier de vertus curatives ou thérapeutiques liées aux principes de ces eaux, de la stabilité de leurs caractères physiques et de leur composition chimique (**Bekkouche, 2009**).

L'Algérie est considérée parment les nombreux pays qui sont riches en eaux thermales, minérales et thermo-minérales (**Mekebret, 2017**).

La commune de Sergine qui appartenant administrativement à la wilaya de Tiaret Nord-Est de la ville de KasrChellala est connue par ces ressources en eaux thermales qui sont actuellement exploitées dans le cadre de thermalisme vue sa potentialité et son utilisation médicale (**kovraket al., 2018**).

L'eau pure n'existe pas dans la nature, elle contient toujours de nombreuses substances d'origine naturelle (**Sarri, 2002**). Les bactéries peuvent se trouver dans les sources thermales sous deux formes : soit des bactéries planctoniques librement flottantes où des colonies formant des biofilms (**Zobell et Meyer, 1931**). Elles établissent une forte relation d'adhérence entre eux (**Costerton, 1978**).

Les bactéries peuvent adhérer entre elle pour former un biofilm sur une surface inerte ou vivante : cette communauté, sessile, est résistante aux anticorps, aux phagocytes, aux antibiotiques et aux antiseptiques.

Dans notre travail, nous avons essayé d'étudier le pouvoir adhésif de quelques souches thermotolérantes qui peuvent être existées dans les eaux thermales de Sergine et qui peuvent être installées dans les canalisations.

Notre étude sera subdivisée en deux parties :

Une partie bibliographique regroupe le nécessaire des connaissances théoriques sur le thème et une partie expérimentale comprenant de deux volets : un volet réservé à la présentation des matériels et des méthodes utilisés pour l'identification des souches et pour la détermination de pouvoir adhésif et l'autre détaille la discussion des résultats obtenus ainsi que leur interprétation, suivi par une conclusion générale.

***Synthèse  
bibliographique***

## **Synthèse bibliographique**

### **1. Les eaux thermales**

Une eau thermale est tout d'abord une eau minérale naturelle, c'est-à-dire une eau possédant un ensemble de caractéristiques qui sont de nature à lui apporter des propriétés favorables à la santé. Elle contient des minéraux, des sels et de gaz susceptibles d'agir efficacement sur la santé (**Amrane, 2018**).

Une eau thermale est par définition, une eau minérale chaude. On appelle « eau thermale » toute eau minérale dotée de propriétés thérapeutiques et utilisée au sein d'un établissement thermale (**Geze, 2006**).

Cette dernière a un rôle important dans le thermalisme qui est organisé autour des orientations médicales : Rhumatologie, pneumologie, dermatologie, neurologie....

Ces orientations sont principalement liées à la nature des produits thermo-minéraux présents et exploités dans la station thermale, mais aussi les compétences et les techniques de soins développées et mise en œuvre sur chaque site (**Geze, 2006**).

Dans les stations thermales, il n'y a pas que des avantages mais il existe plusieurs problèmes entre autres la formation des biofilms dans la canalisation et les bassins.

### **2. Définition de biofilm**

Les biofilms sont des communautés microbiennes intégrées dans une matrice visqueuse protectrice composée de divers types des polysaccharides, des protéines, des acides nucléiques et des lipides d'origine microbienne (**Fleming et Wingerder, 2010**).

### **3. Étapes de formation d'un biofilm**

La formation d'un biofilm a été plusieurs fois décrite dans la littérature mais le déroulement garde encore des zones d'incertitudes (**Filloux et Vallet, 2003; Hall-Stodley et al., 2004**).

Il admet que la formation d'un biofilm peut être faite en quatre étapes principales :

### ➤ **Attachement où adhérence réversible**

Un mélange d'eau, de sels et de protéines forme le biofilm qui conditionne la surface et permet aux bactéries d'établir des interactions attractives non spécifiques (électrostatiques et électrodynamiques) avec le support (**De Chalvet de Rochemonteix, 2009**).

Cette étape est influencée par les propriétés physicochimiques (hydrophobicité, rugosité, pression, PH, T°) de la surface bactérienne, du support et de milieu baignant (**Yeuhuei et Richard, 2000**).

### ➤ **Attachement où adhérence irréversible**

Lorsque les bactéries se rapprochent et interagissent avec le support, elles se fixent à celui-ci par un assortiment de structure de surface qu'elles développent.

Il s'agit particulièrement des exopolysaccharides (EPS) recouvrant la capsule, les pilis, les flagelles et les adhésines. L'adhérence est un phénomène complexe, suite à l'adhérence, une phase intermédiaire est observée, les bactéries, une fois fixées, subissent des changements physiologiques et organisent une niche au sein d'une matrice extracellulaire qu'elles produisent (structure initiale du biofilm) : C'est le développement précoce du biofilm (**Yeuhuei et Richard, 2000 ; Roux et Ghigo, 2006**).

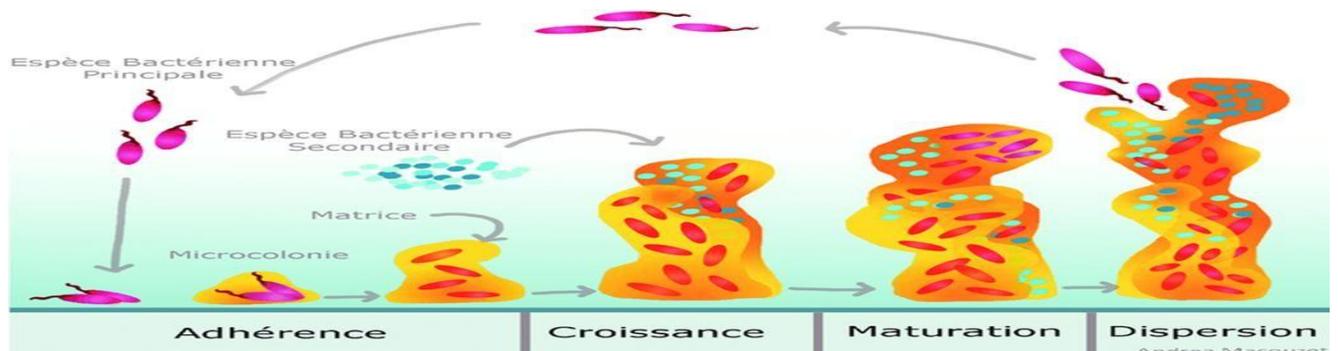
### ➤ **Maturation du biofilm**

Elle dépend des conditions environnementales telles que la source de carbone ou le régime hydrodynamique. Le biofilm peut avoir une croissance exponentielle et atteindre son épaisseur maximale jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel (**Teh et al., 2015**). Dans cette structure tridimensionnelle se forment des canaux permettant la circulation de nutriments, d'oxygène et l'évacuation des produits issus de métabolisme bactérien (**Hobleyet al., 2015; Giaouriset al., 2015**). Une coexistence de long terme s'établit entre les bactéries et le biofilm peut accueillir des espèces secondaires (**Hobleyet al., 2015; Giaouris et al., 2015**). En effet, dans l'environnement naturel, il est exceptionnel de rencontrer un biofilm d'une seule espèce bactérienne (**Nadellet al., 2009 ; Watnick et Kolter, 2000**).

## ➤ Essaimage où la dispersion

Finalement, l'épaisseur d'un biofilm se stabilise lorsque les phénomènes d'attachement du biofilm compensent sa croissance (Parot, 2007). L'arrachement peut être auto-induit par les bactéries, par un assortiment de signalisation, ou par un ensemble de facteurs extérieurs (Tech *et al.*, 2015 ; Kostakioti *et al.*, 2016).

Cette étape permet non seulement de promouvoir une diversité génétique mais aussi de favoriser la colonisation de nouvelles niches écologiques et par conséquent la formation d'autre biofilm (Vazquez, 2014).



**Figure 01:** Etapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien (Tremblay *et al.*, 2014).

## 4. Impact d'un biofilm

Le mode de vie en biofilm permet aux bactéries d'acquérir des avantages d'un point de vue métabolique.

L'organisation communautaire du biofilm permet d'optimiser les mécanismes de capture de substrats et de réaliser des véritables économies d'énergie et des réserves (Bury-Mon , 2007). D'autre part, l'organisation architecturale complexe du biofilm permet une coopération entre micro-organismes dans les systèmes de dégradation de certains nutriments complexes (Tomlin *et al.*, 2005). Ce mode de vie assure une promiscuité entre cellules et permet la réalisation des actions synergétiques.

Il préserve aussi ces derniers de l'action d'un certain nombre de facteurs hostiles présents dans l'environnement.

*Partie  
expérimentale*

## **Partie expérimentale**

### **1 Matériel et méthodes**

Cette partie consiste à présenter la région d'étude ensuite le matériel et les méthodes d'analyses utilisés, en vue d'examiner le pouvoir adhésif de quelques souches thermotolérantes de la station thermale de la commune Sergine Nord-est de Ksarchellala Wilaya de Tiaret.

Ce travail est réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie, et laboratoire d'hygiène et pathologie Animale à l'Université d'Ibn Khaldoun –Tiaret- pour une durée d'un mois.

#### **1.1 Objectif du travail**

Notre objectif est d'étudier le pouvoir adhésif des quelques souches thermotolérants qui peuvent exister dans les eaux thermales de Sergine et qui peuvent être intervenues dans la formation des biofilms au niveau des canalisations.

#### **1.2 Présentation de la source thermale étudiée**

A 160 km à l'extrême Est de la Wilaya de Tiaret, aux confins territoriaux avec la Wilaya de Djelfa, Hammam Sergine, incrusté au pied d'une majestueuse colline.

Une station thermale dont les eaux, provenant d'une grande profondeur, située dans la commune de Sergine, à 16 Km de la ville de Ksarchellala.

Cette station s'étendant sur une superficie de 50ha et elle est classée en tant que zone touristique (**Khalid, 2005**).



**Figure 02:**Source thermique de Sergine (Photo prise par les auteurs).

### **1.3 Origine des souches utilisées**

Les quatre souches utilisées (S1, S2, S3 et S4) ont été isolées l'année passée, à partir de l'argile de Hammam Sergine et conservées en culture pure dans un bouillon nutritif additionné au Glycérole a-18C°, au niveau de laboratoire d'hygiène et pathologie animale à l'université Tiaret. Ces derniers sont subit une ré-identification pour confirmer les résultats obtenus en amant et faire les déférents tests de pouvoir adhésif.

#### **1.4.1 Identification des bactéries isolées**

L'identification de ces bactéries repose sur les principaux critères morphologiques et biochimiques qui permettent de distinguer chacune de son groupe.

- **Revivification et purification des souches**

##### **Principe**

Lorsque les souches étudiées sont conservées pendant un (1) an donc en fait une activation et purification de chaque une pour atteindre une culture jeune qui permet de faire les déférents testes d'identifications selon les protocoles standards.

## Technique

### ✓ Activation/revivification

Dans une zone stérile, ensemercer à l'aide d'une pipette pasteur boulée la souche choisie et laisser incuber pendant 24 h à 45°C dans un milieu d'enrichissement.

### ✓ Purification

Après l'activation au milieu liquide faire un ensemencement alternatif sur milieu solide (liquide /solide) et incuber à 45°C /24h, jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

## 1.4.2 Identification morphologiques

### 1.4.2.1 Caractères macroscopiques

La recherche doit être effectuée à partir d'une culture de 24h, pour noter l'aspect de culture en milieu liquide (trouble) et définir : la forme, la taille, la couleur et l'aspect des colonies sur un milieu solide (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

### 1.4.2.2 Caractères microscopiques

- **Coloration de Gram**

#### Principe

L'étude microscopique permet d'observer la morphologie des cellules, leur tailles, leur modes de regroupement et leurs formes (**Bourgeois et Leveau, 1980**) et ainsi de distinguer entre les deux groupes bactériens « Gram positif + ou négatif - » (**Aminetouet al., 2008**).

#### Technique

Le frottis, séché et fixé, est recouvert de violet de Gentiane, toutes les bactéries prennent ce colorant.

On recouvre alors de réactif de Lygol qui joue le rôle mordant ; en suite, le frottis est soumis à l'action de l'éthanol de fraction volumique (90-95 %), l'éthanol dissout le violet de Gentiane et permet la décoloration de certaines bactéries dites à Gram négatif, les bactéries à Gram positif restent violettes, après un lavage à l'eau, le frottis est recouvert d'un deuxième colorant Safranine ou Fuschine basique phénolée qui recolorie en rose les bactéries précédemment décolorées.

## **Lecture**

Observer après séchage et à l'immersion (Objectif 100) en pleine lumière.

### **1.4.3 Identification biochimique**

#### **1.4.3.1 Mise en évidence des enzymes respiratoires**

- **Test catalase**

### **Principe**

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives, elles décomposent l'eau oxygénée qui se dégage, la recherche de cet enzyme est utile pour différencier les bactéries (**Joffin et Leyral, 2006**).

La réaction est la suivante :



### **Technique**

Déposer sur une lame de verre une ou deux gouttes d'eau oxygénée.

Prélever à l'aide de l'effilure d'une pipette pasteur un fragment de colonies et dissocier la culture dans l'eau oxygénée.

## **Lecture**

La présence d'une catalase se traduit, après quelques secondes par la formation de bulles d'oxygène (Joffin et al., 2006).

- **Test de l'oxydase**

## **Principe**

Le cytochrome oxydase est une enzyme qui intervient à la fin de la chaîne respiratoire pour catalyser la fixation de l'hydrogène et les électrons sur l'oxygène.

Sa production est mise en évidence par des disques « OX » imprégnés d'oxalate NN- diméthyl-paraphénylène-diamine (Joffin et Leyral, 2006).

## **Technique**

Sur une lame, on dépose un disque « OX » puis à l'aide d'une pipette pasteur prélever une colonie en suspension.

## **Lecture**

S'il y a apparition d'une couleur rose violette, la bactérie possède une oxydase.

### **1.4.3.2 Caractérisation du type respiratoire**

- **Test viande foie (VF)**

## **Principe**

Le type respiratoire est caractérisé sur un milieu solide de viande foie.

La peptone viande foie favorise la croissance de la plupart des micro-organismes anaérobies.

## Technique

À partir d'une colonie prélevée d'un milieu d'isolement, nous avons fait un ensemencement par un piquer central en deux série. En ajout glycérol dans l'un de série pour les conditions anaérobie.

L'incubation 45°C |24 h

## Lecture

Effectuer la lecture après 24heurs d'incubation, puis quotidiennement pendant 05 jours.

### 1.4.3.2 Utilisation de substrat carboné

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

#### 1.1 Utilisation du citrate

##### Principe

Le milieu ne contenant qu'une seule source de carbone « citrate », seuls les bactéries possédant un citrate perméase sont capable de se développer l'utilisation du citrate se traduit par une alcalinisation du milieu lorsque la dégradation est complète et en aérobie, suivant le Schéma réactionnel suivant :



## Technique

À partir d'une colonie prélevée, ensemencer la pente de la gélose inclinée selon une strie longitudinale l'aide d'une pipette pasteur. Une incubation de 24 à 48 heures à 45°C est nécessaire pour la plupart des bactéries thermophiles, mais on peut-être amené à prolonger la durée d'incubation.

## Lecture

Les bactéries «citrate positives» présentent une culture sur la pente avec alcalinisation du milieu. « virage de l'indicateur de PH du Vert au bleu » (**Harley et Prescott, 2002**).

## 2.1 Test mannitol Mobilité

### Principe

- **Fermentation du mannitol**

Les bactéries mannitol positive acidifient le milieu qui vire au jaune (teinte de rouge de phénol en milieu acide) (Harley et Prescott, 2002).

- **Réduction des Nitrates et production de Gaz**

- Les Nitrates sont réduits en Nitrites puis en N<sub>2</sub> par le Nitrate Réductase.
- La production du gaz CO<sub>2</sub> sera révélée par l'apparition de bulles.

- **Etude de la mobilité**

Les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle.

### Technique

À partir d'une colonie prélevée d'un milieu d'isolement, nous avons ensemencé le milieu par piqûre centrale. Incubation à 45°C pendant 24heures (Joffinet *al.*, 2001).

### Lecture

- ✓ Culture dans tout le milieu la souche mobile.
- ✓ Culture dans le milieu la souche est immobile.
- ✓ Le milieu devenu jaune la souche a un mannitol négatif.

### 3.1 Utilisation des sucres sur milieu Triple Sugar Iron (Glucose, lactose et saccharose)

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des souches par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de Sulfure d'Hydrogène.

#### Principe

- Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification du milieu de culture indiquée par un virage de couleur au jaune.
- Les germes qui ferment le lactose ou le saccharose font le virage de couleur de la pente du tube au jaune.
- Les germe qui fermentent que le glucose font le virage de couleur du culot du tube au jaune.
- Les germe qui ne fermentent aucun des trois sucres ne modifient pas la couleur du milieu.
- La production manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de Fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique.
- La production de gaz (Hydrogène, dioxyde de carbone) résultant des fermentations sucrées se traduit par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose (Murray *et al.*, 2009).

#### Technique

A partir d'une colonie prélevée d'un milieu d'isolement ensemencer le culot par pique centrale et la surface inclinée par des stries serrées.

Incuber à 45°C pendant 24heures.

## Lecture

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

### ✓ Fermentation de Glucose

- Culot rouge : glucose non fermenté
- Culot jaune : glucose fermenté

### ✓ Fermentation du lactose et/ ou de saccharose

- Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés.
- Pente inclinée jaune : lactose et /ou saccharose fermenté (S).

### ✓ Production de Gaz

Apparition de gaz dans le culot.

### ✓ Fermentation d'H<sub>2</sub>S

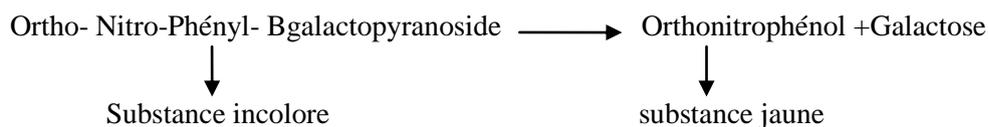
Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la pique.

## 1.4.3.3 Recherche de la $\beta$ . Galactosidase

### Principe

La recherche de la  $\beta$ . Galactosidase est un des premiers tests enzymatiques réalisés en pratique courante.

On utilise l'ONPG ou Ortho- Nitro- Phényl- $\beta$ Galactopyranoside qui sera hydrolysé par la  $\beta$ .Galactosidase en libérant du galactose et de l'ortonitrophénol de couleur jaune (Joffinet al., 2001).



## **Technique**

Dans des tubes contient un bouillon nutritif réaliser une suspension bactérienne et ajouter avec une pipette Pasteur stérile un disque d'ONPG.

Incuber 30 min à 45°C.

## **Lecture**

- S'il y'a apparition d'une couleur jaune, la bactérie possède une B. Galactosidase
- Si la suspension reste incolore, la bactérie ne possède pas B. Galactosidase (**Joffin et al., 2001**).

### **1.4.3.4 Dégradation des acides aminés**

- **Décarboxylases ODC, LDC, ADH**

## **Principe**

Le diagnostic différentiel des espèces est souvent facilité par la recherche de la lysine décarboxylase (LDC) de l'ornithose décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH).

## **Technique**

Avec une colonie bactérienne bien isolée ensemencer les milieux LDC, ODC, et ADH qui ont été recouverts par une fine couche de Glycérol pour assurer l'anaérobiose. Incuber à 45°C pendant 24 heures.

## **Lecture**

Le résultat positif se traduit par une couleur violette du milieu indicateur de l'alcalinisation.

## 1.5 Évaluation des propriétés de l'adhérence

### 1.5.1 Adhérence sur tube de verre

#### Principe

La méthode d'adhérence sur un tube de verre a été utilisée pour évaluer l'adhésion sur tissus durs de nos souches ; une adhésion importante peut-être corrélée à la production d'exopolysaccharides de surface (**Hamada et Slade, 1980 ; Mukasa et Slad, 1973**).

#### Technique

Dans un tube de verre contenant 10ml, 500UI d'une culture bactérienne à tester (DO<sub>650mm</sub>=0,1) est ajoutée.

Incuber 28°C pendant 05 jours.

#### Lecture

Selon l'échelle établie par **Murchison** et ses collaborateurs en 1981 la formation du biofilm est évaluée après 05 jours, les valeurs de cette échelle s'étendent de 0 (aucun adhérence) à 4 (forte adhésion).

### 1.5.2 Méthode MATH

#### Principe

La méthode MATH a été utilisée ici pour l'exploration de l'hydrophobicité de la surface des bactéries selon la méthode de **Kos et al. (2003)** avec une légère modification de **Chew et al. (2015)**.

#### Technique

Une suspension de 10 ml des isolats est centrifugée à 8400g pendant 15 min, le surnageant est éliminé et le culot resuspendu dans un tampon phosphate de potassium (pH=7). Le culot est ainsi lavé deux fois à 8400g pendant 15min et à nouveau resuspendu dans le tampon phosphate. La densité optique de la suspension obtenue est mesurée pour une longueur ( $A_0$ ) d'onde de 400 MM. Un (01) ml du solvant (xylène / toluène) est ajouté à 6ml de la suspension bactérienne et le mélange obtenu est vortex pendant 90s. La complète séparation des deux phases est attendue (Environ 15min). Un échantillon de 5ml de la phase aqueuse est prélevé et sa densité optique mesurée DO<sub>400mm</sub>( $A_1$ ).

#### Lecture

Faite une comparaison d'hydrophobicité  $A_0$  et  $A_1$  de chaque souche selon la formule :

$$(1 - A_1 / A_0) \cdot 100$$

# *Résultats et discussions*

## Résultats et discussions

### Identification des bactéries isolées

Après la revivification et la vérification de purification des souches sélectionnées dans des milieux de culture convenables (**voir annexes**), nous avons conclu que nos souches sont pures après l'observation macroscopique des colonies et microscopique des cellules.

Après la revivification, les souches sont subies une ré-identification, les résultats sont les ;;

#### 1.1. Identification morphologique

L'observation des bactéries est possible soit lorsqu'elles sont regroupées en colonies visibles à l'œil nue, il s'agit alors d'une observation macroscopique ; soit à l'état de cellule, il s'agit d'une observation microscopique.

L'observation macroscopique de nos souches, nous a permis de dévisager 3 types de colonies :

**Type 1** : des colonies de forme irrégulière avec une texture crémeuse et une couleur crème : souche 01.

**Type2** : des colonies de forme irrégulière mais avec une texture poudreuse : souche 02 et 03.

**Type 3** : des colonies de forme irrégulière avec des ramifications avec une texture crémeuse : souche 04.

**Tableau n° 01** : Résultats d'identification morphologique

	<b>Identification morphologique</b>					
	<b>Identification macroscopique de la colonie</b>			<b>Identification microscopique de la cellule</b>		
	<b>Forme</b>	<b>Texture</b>	<b>Couleur</b>	<b>Forme</b>	<b>Mode de regroupement</b>	<b>Gram</b>
<b>S1</b>	Irrégulière	Crémeuse	Crème	Coccobacille	Isolée	G <sup>-</sup>
<b>S2</b>	Irrégulière	Poudreuse	Crème	Coccobacille	En chaînette	G <sup>-</sup>
<b>S3</b>	Irrégulière	Poudreuse	Crème	Coccobacille	En chaînette	G <sup>-</sup>
<b>S4</b>	Irrégulière avec ramification à l'extrémité	Crémeuse	Crème	Bacille	En chaînette	G <sup>+</sup>

L'examen microscopique après la coloration de Gram a montré que les trois premières souches sont des bactéries à Gram négatif (couleur rose), contrairement à la quatrième souche qui est Gram positive (couleur violette).

## 1.2. Identification biochimique

Les résultats de caractérisation biochimique sont représentés dans **tableau n°2**

### 1.2.1 Mise en évidence des enzymes respiratoires

- **Test catalase**

Les résultats de ce test pour l'étude du type respiratoire ont montré que toutes les souches isolées ont une catalase positive.

- **Test oxydase**

Les résultats de ce test pour la détermination de la présence de l'enzyme cytochrome C oxydase ont montré que toutes les souches isolées ont une oxydase négative.

## 1.2.2 Mise en évidence du type respiratoire

- **Test viande foie(VF)**

La détermination du type respiratoire d'une bactérie consiste à la détermination de comportement de cette bactérie vis-à-vis de l'oxygène.

D'après nos résultats, nous avons constaté que nos souches présentent deux types respiratoires :

Souche 1 et 3 sont des bactéries aérobies strictes car elles peuvent croître tout au long du milieu, alors que les souches 2 et 4 sont des anaérobies car elles développent uniquement dans la partie inférieure de milieu.

## 1.2.3 Utilisation de substrat carboné

- **Utilisation de citrate**

Ce test est basé sur la capacité d'une bactérie à utiliser le citrate comme seule source de carbone suite à la présence d'une enzyme citrate perméase.

D'après nos résultats, nous avons constaté que les souches 01,03 et 04 sont incapables d'assimiler les citrates de Simons comme seule source de carbone alors que la souche 02 possède cette capacité vu la présence de citrate perméase.

- **Test mannitol mobilité**

Ce test permettant la recherche simultanée de la fermentation du mannitol et la mobilité de la souche. Les résultats ont montré que toutes les souches sont capables de fermenter le mannitol.

Concernant la mobilité, nous avons constaté que les souches 02, 03 et 4 sont mobiles, contrairement à la souche 01 qui est immobile.

- **Utilisation des sucres sur milieu Triple Sugar Iron**

Le milieu TSI est un milieu gélosé, contenant trois sucres (glucose, lactose et saccharose), il permet d'estimer la capacité d'une souche à assimiler ces trois sucres.

D'après nos résultats, nous avons remarqué que les souches 01, 02 et 04 dégradent le glucose alors que la souche 03 ne le dégrade pas.

Les souches 02 et 04 fermentent également le lactose et le saccharose.

#### **1.2.4 Recherche de la $\beta$ -galactosidase**

D'après nos résultats, nous avons remarqué que les souches 02 et 04 possèdent une  $\beta$ -galactosidase alors que les souches 01 et 03 sont dépourvues de cette enzyme.

#### **1.2.5 Recherche des décarboxylases : LDC, ODC, ADH**

D'après nos résultats, les quatre souches sont réagies positivement avec l'arginine et la lysine alors qu'elles sont réagies négativement avec l'ornithine.

Tableau n° 02 : Résultats de l'identification biochimique

Identification biochimique

	enzymes respiratoires		type respiratoire	Teste $\beta$ . Galactosidase	Utilisation de substrat carboné										Dégradation des acides aminés		
	Ox	Cat	Viande foie	ONPG	Utilisation du citrate		Test mannitol Mobilité			TSI					ODC	LDC	ADH
					citrate	gaz	Fermentation du mannitol	production de Gaz	mobilité	Glu	sacc	lac	gaz	H <sub>2</sub> S			
S1	-	+	Aérobie strict	-	+/-	-	+	-	Im mobile	+	-	-	-	-	-	+	+
S2	-	+	Anaérobie	+	+	-	+	-	Mobile	+	+	+	-	-	-	+	+
S3	-	+	Aérobie strict	-	+	-	+	-	Mobile	-	-	-	-	-	-	+	+
S4	-	+	Anaérobie	+	-	+	+	-	Mobile	+	+	+	-	-	-	+	+

## 2. Evaluation de pouvoir adhésif des souches bactérienne thermo tolérants

Le pouvoir adhésif des souches thermotolérantes a été évalué *in vitro* selon deux méthodes : la méthode adhérence sur un tube en verre et la méthode de MATH (**Microbial Adhesion to Hydrocarbure**).

### a. Adhérence sur tube en verre

Les résultats de l'adhérence sur un tube en verre recueillis après 05 jours d'incubation, sont organisés et résumés dans le tableau suivant :

**Tableau n°03** : Résultats d'adhérences des bactéries sur tube en verre.

Souches	Echelle de Murchison
Souche 01	04
Souche 02	04
Souche 03	04
Souche 04	04

D'après ce tableau, nous avons remarqué que les quatre souches présentent un score d'adhésion sur un tube en verre égal à quatre selon l'échelle visuelle de Murchison c'est-à-dire elles ont une forte adhésion.

L'adhésion sur un support solide a une relation directe avec la production des EPS de surface.

## b. Résultats d'évaluation d'adhérence par la méthode MATH

Les souches sont ensuite testées pour leur hydrophobicité de surface selon la méthode MATH.

**Tableau n°04:** Résultats d'évaluation de l'hydrophobicité des souches par la méthode de MATH.

Souches	Hydrophobicité de surface	
	Xylème	Toluène
<b>Souche 01</b>	96 ± 2.54	95.5 ± 3
<b>Souche 02</b>	97.20 ± 3.5	98.10 ± 4
<b>Souche 03</b>	98.15 ± 4.5	97.5 ± 5.10
<b>Souche 04</b>	98.50 ± 5.5	97.02 ± 6.03

D'après les résultats présentés dans le tableau n°03, nous avons remarqué que les quatre souches présentent un caractère hydrophobe avec une très légère différence. Il est remarquable que les souches 04 et 03 sont plus hydrophobes (98, 50± 5.5, 98,15±4,5 respectivement) que les souches 01 et 02 (96 ± 2.54, 96 ± 2.54).

### • Discussion générale

Notre travail consiste à étudier le pouvoir adhésif de quelques souches thermotolérantes qui peuvent exister dans les eaux thermales (la source thermale de Sergine comme cas). Cette étude nous a permis de détecter l'intervenante de celle-ci dans la formation des biofilms dans les canalisations.

L'adhérence bactérienne est la propriété que possèdent certaines bactéries pour se fixer à une surface solide (Abdi, 2015).

Elle permet à certaines bactéries thermotolérantes de se reproduire, se multiplier et de constituer de cette manière des colonies (Abdi, 2015).

Dans le cadre de notre travail, nous avons sélectionné quatre souches thermotolérantes (souche 1, souche 2, souche3, souche4).

Pour évaluer l'adhérence, nous avons utilisé la méthode d'adhérence sur tube en verre décrite par **Mukasa et Salade (1973)** et modifiée par **Hamada et Torii (1978)**, celle-ci permet d'évaluer la capacité d'une bactérie à se fixer sur un support inerte.

Nos résultats suggèrent que nos souches sont en mesure de produire des exopolysaccharides puis que ces souches ont une forte adhérence à la surface de verre.

En fait, ces mécanismes d'adhésion primaire sont les premiers à interférer avec l'adhésion bactérienne à la surface (**Abdi, 2015**).

Selon (**Whiteley et al., 2001 ; Beloin et Ghigo, 2005**), la formation d'un biofilm induit une expression différentielle des gènes, comparée à celle des bactéries planctoniques. Il faut également ajouter que l'ensemble des caractéristiques structurales et physico-chimiques du biofilm confère aux bactéries qui le composent, des propriétés spécifiques de morphologie, de croissance, de communication entre les cellules et de résistances aux biocides, distinctes de celles des bactéries planctoniques.

Parmi ceux-ci, l'hydrophobicité de la surface bactérienne est un mécanisme d'adhérence majeur des bactéries (**Schillinger et al., 2005 ; Wadstrom et al., 1987 ; Rosenberg et al., 1983**).

L'hydrophobicité des cellules bactériennes a été estimée avec la technique d'adhésion aux hydrocarbures (MATH) (Microbial Adhésion to Hydrocarbure) qui consiste à évaluer le pourcentage de cellule ayant une affinité pour les solvants apolaire.

Cette méthode (MATH) permet d'évaluer l'hydrophobicité d'une surface des souches vis-à-vis un solvant apolaire (Xylème et Toluène). L'hydrophobicité des cellules bactériennes est mesurée à l'issue d'une phase aqueuse. La répartition des cellules entre la phase aqueuse et les solvants apolaires, résulte de l'interaction hydrophobe entre les microorganismes et les hydrocarbures.

L'hydrophobicité de la surface cellulaire des souches peut être regroupé en faible hydrophobicité ou hydrophile (0-35%), hydrophobie modérée (36- 70%) et hydrophobie élevée (71-100 %).

Dans ce cadre, les quatre souches présentent une hydrophobicité élevée (>95%), cela est expliqué par l'affinité de ces souches avec les solvants apolaire (Xylème et Toluène).

Les résultats d'hydrophobicité obtenus dans ce travail sont comparables aux valeurs obtenues pour les souches les plus adhérentes (**Chew et al., 2015 ; Mobili et al., 2010**).

Cette adhérence est probablement due à la présence des groupes carboxyliques sur la surface microbienne (**Bellon-Fontaine et al., 2010**).

Cependant, il convient de noter que l'hydrophobicité de surface est un paramètre fragile et peut-être modifiée par l'exposition aux antibiotiques, aux surfactants .... Bien que l'hydrophobicité soit généralement considérée comme stable chez les bactéries à Gram positif. Cela est de plus en plus remis en question.

Dans une étude réalisée par **Abdi (2015)** ayant pour objectif de comprendre les rôles des EPS dans la colonisation et l'installation de la flore commensale, il a été prouvé que quatre souches commensales (*Lactobacillus reuteri*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* et *Escherichia coli*) ont un caractère hydrophobe mais avec des pourcentages différents et que cette hydrophobicité joue un rôle cruciale dans l'adhésion.

D'après **Ross et Jonsson (2002)** et **Guglielmotti et al. (2007)**, L'hydrophobicité de la paroi cellulaire est une propriété physico- chimique qui facilite les premiers contacts entre les microorganismes et les cellules hôtes. Ainsi, elle semble comme un facteur d'adhérence, mais elle ne contribue pas à l'intensité d'adhésion.

La surface des cellules bactériennes possède plusieurs structures et propriétés qui contribuent à leur adhérence sur les surfaces : les fimbriae (les pili), la paroi cellulaire (acide téchoïques chez les bactéries à Gram+ et la membrane externe (lipo polysaccharide) chez les bactéries à Gram-. Ces caractéristiques influencent la charge extérieure (électrostatique) et l'hydrophobicité de la cellule bactérienne, affectant directement leur adhésion (**Pace et al., 2006**).

Le caractère hydrophobe d'une bactérie est dû à la présence des substances protéiques à la surface cellulaire. Ainsi que, il est lié à la présence de polysaccharides (**Pelletier et al., 1997**).

L'hydrophobicité peut être augmentée avec le taux de protéines présentes à la surface de la bactérie et déminée par la présence de polysaccharide (**Boutaleb et al., 2008**).

Par ailleurs, plusieurs travaux antérieurs ont montré que l'adhésion des bactéries hydrophobes est généralement supérieure à celle des bactéries hydrophile car une bactérie hydrophobe aura plus de facilité pour enlever le film d'eau la séparant de la surface à coloniser et qu'elle établira plu facilement contact avec cette surface, qu'une bactérie hydrophile (**Bruinsma et al., 2001, Moreno et al., 2002 ; Bayoudh et al., 2006**).

**M'Hamed (2015)** est suggéré qu'il existe une corrélation positive entre le degré d'hydrophobicité bactérienne et l'adhérence sur les surfaces abiotiques.

Dans ce travail, cette relation est délectée entre l'hydrophobicité de surface cellulaire et la formation de biofilm ou bien l'adhésion sur un tube de verre par conséquence, les 04 souches thermo tolérantes utilisées ont fait un biofilm et adhérer sur un tube de verre avec un haut degré.

Enfin, le mode de vie des bactéries en biofilm est souvent lié à la structure pariétale de la bactérie et la nature de surface qui influencent leur adhésion. L'adhérence peut faire sur différents supports, chacun ayant des caractéristiques d'hydrophobicité et de charge de surface différents, ce qui peut favorise ou non l'adhérence microbienne (**Bellifa, 2014**).

***Conclusion***

***Générale***

## **Conclusion**

L'adhésion bactérienne est une situation dans laquelle la bactérie se fixe à une surface par des interactions physico-chimiques, en adaptant sa physiologie et sa conformation. L'adhésion à une surface est un mécanisme de survie pour les bactéries ; les éléments nutritifs dans les milieux aqueux ont une tendance à s'accumuler à la surface, donnant aux bactéries adhérentes un avantage par rapport aux bactéries en suspension, celles que l'on appelle des bactéries planctoniques.

L'adhésion bactérienne est généralement reconnue comme la première étape de la formation d'un biofilm.

Cette recherche est s'intéressée principalement à l'étude de pouvoir adhésif des quelques souches thermotolérantes selon deux méthodes : la méthode d'adhérence sur tube de verre et la méthode de MATH.

Selon les résultats d'identification des souches, nous avons conclu que les quatre souches utilisées sont des souches thermotolérantes (la température optimale de croissance est de 45 °C), les souches (01, 02 et 03) sont des bactéries à Gram négatif, alors que la quatrième souche a un Gram positif, les colonies de ces souches ont une forme irrégulière et crémeuse.

Concernant les critères biochimiques des souches, toutes les bactéries ont une catalase positive et une oxydase négative, les souches 01 et 03 sont des aérobies stricts alors que les souches 02 et 04 sont des anaérobies. Retenant qu'en plus de la dégradation du mannitol, la souche 01 est immobile.

Les quatre souches sont capables d'assimiler les trios sucres (glucose, saccharose et lactose) et les acides aminés (arginine et lysine) alors qu'elles sont incapables de dégrader l'Ornithine.

A la lumière des résultats recueillis, nous pouvons conclure que les quatre souches (01, 02, 03, 04) possédants une capacité d'adhérence très importantes sur un support solide selon d'échelle de Murchison, cette capacité a une relation direct avec la production des EPS de surface.

L'évaluation de l'hydrophobicité par la méthode de MATH, a révélé que les souches sont hydrophobes avec des pourcentages élevés (entre 96 et 98%).

Enfin, l'adhérence bactérienne sur une surface est liée essentiellement avec la structure de la paroi cellulaire, le taux des protéines cellulaire, la présence des polysaccharides et aussi avec l'hydrophobicité de la surface cellulaire.

En perspective, il serait intéressant de comprendre au niveau cellulaire et moléculaire les mécanismes par lesquels les bactéries s'installent et adhèrent sur les surfaces biotiques et abiotiques.

***Références***

***Bibliographiques***

## Références bibliographiques

### A

- **Abdi F.Z. (2015).** Quels Rôles des Exopolysaccharides (EPS) dans l'expression et l'implantation de la flore microbienne commensale. Mémoire de magister en Substances Naturelles et Innovation thérapeutique. Faculté des Sciences de la Nature et de Vie. Université Mustapha Stambouli de Mascara.
- **Aminetou B.M., Sidi Bacha A.M. (2008).** Manuel de travaux pratiques de microbiologie.
- **Amrane M., Tifour H. (2018).** Evaluation de la qualité physicochimique et microbiologique des thermales de Hammam Righa (Ain Defla).

### B

- **Bayoudh S., Othmane A., Bettaieb F., Bakhrouf A., BenOuada H., Ponsonnet L.(2006).** Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Materials Science and Engineering* .26: 300-305.
- **Bekkouche.M. ;(2009).** Caractéristiques des sources thermales dans la région D'AZZABA. Mémoire de Magister. Institut de Science de la terre. Université d'Annaba.
- **Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat .Université abou bekr belkaid, Tlemcen.
- **Bellon-Fontaine M. N., Rault J., and van Oss C. J. (1996).** Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells. *Colloids Surf B Biointerfaces* 7:47-53.
- **Beloin, C. and J.M. Ghigo. (2005).** Finding gene-expression patterns in bacterial biofilms. *Trends in Microbiology* 13:16-9.
- **Bourgeois C.M., Leveau J.Y. (1980).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Volume3 TEC8 doc.France.P331.
- **Boutaleb N., Latrache H., Sire O. (2008).** Bioadhésion bactérienne dans les réseaux d'eau potable : Effets des matériaux et des facteurs environnementaux.
- **Bruinsma G.M., Van der Mei H.C., Busscher H.J. (2001).** Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. *Biomaterials*: 22, 32, 17, 32, 24.

- **Bury-Moné S., Michel Thiberge J., Contreras M., Maitournam A., Labigne A., Reuse H., (2007).** Responsiveness to acidity via metal ion regulators mediates virulence in the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Molecular microbiology*.

## C

- **Chew S. Y., Cheah Y. K., Seow H. F., Sandai D. et Than L.T. L. ( 2015).** Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 exhibit strong antifungal effects against vulvovaginal candidiasis- causing *Candida glabrata* isolates. *J. Applied Microbiology*. 118.1180-1190.
- **Costerton J. W., G. G. Geesey et K. J. Cheng. (1978).** How bacteria stick. *Sci Am*. 238:86-95.

## D

- **De Chalvet De Rochemonteix A. (2009).** Les Biofilms Et La Peau. Thèse pour un doctorat vétérinaire, La Faculté De Médecine De Créteil. École Nationale Vétérinaire d'Alfort P17.27.

## F

- **Filloux A., Vallet I (2003).** Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Médecine|sciences*19 :77.83.
- **Flemming, Hans-Curt., Wingender, Jost.(2010).** The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology* vol.8, p.623-633.

## G

- **Gallardo-Moreno A.M., González-Martín M.L., Pérez-Giraldo C., Garduño E., Bruque J.M., Gómez-García A.C.** Thermodynamic Analysis of Growth Temperature Dependence in the Adhesion of *Candida parapsilosis* to Polystyrene. *Applied and Environmental microbiology* 68: 2610.

- **Geze. (2006).** Les eaux thermales au traitement adjuvant dermatologique et dermo-cosmétologique. Exemple de l'Eau thermale d'Avène. Thèse de docteur en pharmacie, Université Joseph Fourier P177.
- **Giaouris E., Heir E., Desvaux M., Hébraud M., Moretto T., Langsrud S., Doulgeraki A., Nychas G., Kačániová M., Czaczyk K., Ölmez H., Simões M(2015).** Intra- and inter-species interactions within biofilms of important foodborne bacterial pathogens. *Front. Microbial.* P26.
- **Guglielmotti D.M., Marcó M.B., Golowczyc M., Reinheimer J.A., Quiberoni A.D.L(2007).** Probiotic potential of *Lactobacillus delbrueckii* strains and their phage resistant mutants. *International Dairy Journal.* P17.916-925.

## H

- **Hall-Stoodley L, Costerton J W et Stoddley P. (2004).** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology* 2:95-108.
- **Hamada, S., and M. Torii. (1978).** Effect of sucrose in culture media on the location of glucosyltransferase of *Streptococcus mutans* and cell adherence to glass surfaces. *Infect Immun* 20:592-9.
- **Harley J.P., Prescott L.M. (2002).** *Laboratory Exercises in Microbiology* Fifth Edition. P449.
- **Hobley L., Harkins C., MacPhee C.E., Stanley-Wall N.R (2015).** Giving structure to the biofilm matrix: an overview of individual strategies and emerging common themes. *FEMS Microbiology Reviews.* P 649-669.

## J

- **Joffin J.N et Leyral G. (2001).** *Microbiologie technique. Tome 2. Document technique* 2ème édition. CRDP De Bordeaux.
- **Joffin J.N et Leyral G. (2006).** *Microbiologie technique. 4ième édition, centre régional de documentations pédagogique d'Aquitaine.*

## K

- **Khalid A., (2005).** « Hammam Sergine. Tiaret » .El watan (29/06/2005). Sur le site Djazairress: [http : www.djazairress.com /fr/elwatan/22219](http://www.djazairress.com/fr/elwatan/22219) (consulté le 02/02/2018).
- **Kostakioti M., Hadjifrangiskou M., Hultgren S.J. (2016).** Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era. Published by Cold Spring Harbor Laboratory Press.P1.23.
- **Kos B., Suskoic J., Simpraga M., Frece J. et Matosic S. (2003).** Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J. Appl Microbiol* 94, 981-987.
- **Kourak I., Rahmani S., Zoubida C., (2018).** Caractérisation physico chimique et microbiologique d'une eau thermale (Hammam Sergine Kasr chellal).

## M

- **M'Hamed I. (2015).** Evaluation de la formation de biofilms des souches d'*Acinetobacter* isolées de dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- **Mekebret I, (2017).** Synthèse hydrogéologique et origine de la salinité des eaux thermominérales du littoral oranais par les méthodes géochimiques et isotopiques. Mémoire de magister en Sciences de la Terre. Faculté des Sciences de la Terre et de l'Univers. Université d'Oran 2.156P.
- **Mobili P., Serradell L. et Trejo S. (2010).** Heterogeneity of S-layer proteins from aggregating and non-aggregating *Lactobacillus kefir* strains. *AntonieVan Leeuwenhoek*. 95:363-372.
- **Mukasa H ., and Slade. H. D. (1973).** Mechanism of adherence of *Streptococcus mutans* to smooth surfaces. I. Roles of insoluble dextran-levan synthetase enzymes and cell wall polysaccharide antigen in plaque formation. *Infect Immun* 8:555-62.
- **Murchison H., Larrimore S., and Curtiss R. (1981).** Isolation and characterization of *Streptococcus mutans* mutants defective in adherence and aggregation. *Infect Immun* 34:1044-55.

- **Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., et al. (1999).** Manual of clinical Microbiology. 7th ed. American Society for Microbiology, Washington DC. p. 442-458.

## N

- **Nadell C.D., Xavier J.B., Foster K.B. (2009).** The sociobiology of biofilms. FEMS Microbiology Reviews.P206-224.

## P

- **Pace J.L., Rupp M.E., Finch R.G. (2006).** Biofilms, infection, and antimicrobial therapy.P494.
- **Parot S., (2007).** Biofilms électroactifs: formation, caractérisation et mécanismes. Institut national polytechnique de Toulouse.P9-12.
- **Pelletier C., Bouley C., Cayuela C., Bouttier S., Bourlioux P., Bellon-Fontaine M.N. (1997).** Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus* strains. Appl Environ Microbiol. - 03-1725–1731.

## R

- **Roos S., Jonsson H. (2002).** A high-molecular-mass cell-surface protein from *Lactobacillus reuteri* 1063 adheres to mucus components. Microbiology 148,433,442.
- **Rosenberg, M., H. Judes, and E. Weiss. (1983).** Cell surface hydrophobicity of dental plaque microorganisms in situ. Infect Immun 42:831-4.
- **Roux A, Ghigo J.M. (2006).** Les biofilms bactériens. Communication.P263.268.

## S

- **Sarri F., (2002).** Etude physicochimique des eaux de la région de Sergine .Mémoire de Magister. Université de Tiaret.
- **Schillinger, U., C. Guigas, and W. H. Holzapfel. (2005).** In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products. Int Dairy J 15:1289-1297.

## T

- **Teh K.H., Flint S., Brooks J., Knight G. (2015).** Biofilms in the Dairy Industry .P1.12.
- **Tomlin D., Anen C., Camerer C.F., Quartz.S.R., Montague.R.(2005).** Getting to Know You: Reputation and Trust in a Two-Person Economic Exchange.
- **Tremblay J.D.N., Hathroubi S., et Jacques M. (2014).** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. The Canadian Journal of Veterinary Research.P2.

## V

- **Vázquez J.A. (2014).** Modeling of chemical inhibition from amyloid protein aggregation kinetics. BMC Pharmacology and Toxicology.P11.

## W

- **Wadstrom, T., K. Andersson, M. Sydow, L. Axelsson, S. Lindgren, and B. Gullmar. (1987).** Surface properties of lactobacilli isolated from the small intestine of pigs. J Appl Bacteriol 62:513-20.
- **Watnick P., Kolter R., (2000).** Biofilm, City of Microbes. Journal of Bacteriology. P2675.2679.
- **Whiteley M., Gita Bangera M., BumgarnerR.E., Parsek M.R., Teitzel G.M., Lory S., Greenberg P.E.(2001).** Gene expression in Pseudomonas aeruginosa biofilms.

## Y

- **Yuehwei H.A., Richard J.F(2000).** Handbook of bacterial adhesion: principles, methods, and applications Friedman in Humana Press, Jersey.P1.91.

## Z

- **Zobell C., Meyer K. (1931).**Reduction of nitrates by representatives of the Brucella group. Proc. Soc. Exp. Biol. Med, vol. 29, p. 116–118.

# *Annexes*

**Annexe 01:** Dispositif et produits pour la réalisation de ce travail.

<b>Appareils</b>	<b>Verrerie</b>	<b>Milieux de culture</b>	<b>Produits chimique et colorants</b>	<b>Autres</b>
Agitateur magnétique thermique	Erlenmeyers gradués	Gélose nutritif	Fushine	Bec bunsen
Autoclave	Lames	Bouillon d'enrichissement	Lugol	Entonnoir
Bain marie	Pipettes pasteur		Violet de gentien	Barreaux Magnétique
Centrigeuse	Tubes à essai		Ethanol	Gants
Microscope optique	Béchers		Xylème	Seringues stériles
Chronomètre	Pipette graduées		Gélose en poudre	Porte tubes
Balance analytique	Micropipette		Eau oxygénées	Bavette
Stérilisateur	Flacons en verre		Eau distillée	Boite pétrie stérile
Réfrigération	Verre de montre		Eau de javel	Spatule

**Annexe 02:** Composition des milieux liquides et gélifiés utilisés**Gélose nutritif : Pour 100ml**

Chlorure de sodium.....	0,5g
Extrait de levure.....	0,25g
Peptone.....	0,5g
Extrait de viande .....	0,1g
Agar.....	1,5g
Eau de source stérile .....	100ml

**Bouillon d'enrichissement : Pour 100ml**

Chlorure de sodium .....	0,2g
Peptone .....	0,8g
Extrait de levure .....	0,4g
Eau de source stérile.....	100ml

**Milieu (M1)**

Chlorure de sodium.....	0,2g
Extrait de levure .....	0,4g
Peptone.....	0,8g
Agar .....	1,5g
Eau de source stérile.....	100ml

**Citrate de Simmons (gélose) : Pour 100ml**

Citrate de sodium.....	0.2g/L
NaCl .....	0.5 g/L
Sulfate de magnésium .....	0.02g/L
Phosphate monoammonique .....	0.1g/L
Phosphate bipotassique .....	0.1g/L
Bleu de bromothymol .....	0.008g/L
Agar .....	1.5g/L
PH 7.2	

**TSI: Pour 100ml**

Peptone .....	1.5g/L
Extrait de viande .....	0.3g/L
Extrait de levure .....	0.3g/L
Peptone pepsique de viande .....	0.5g/L
Glucose .....	1g/L
Lactose .....	1g/L
Saccharose .....	1g/L
Rouge de phénol .....	0.0024g/L
NaCl .....	0.5g/L
Sulfate de fer .....	0.02g/L
Thiosulfate de Sodium .....	0.03g/L
Agar .....	1.1g/L

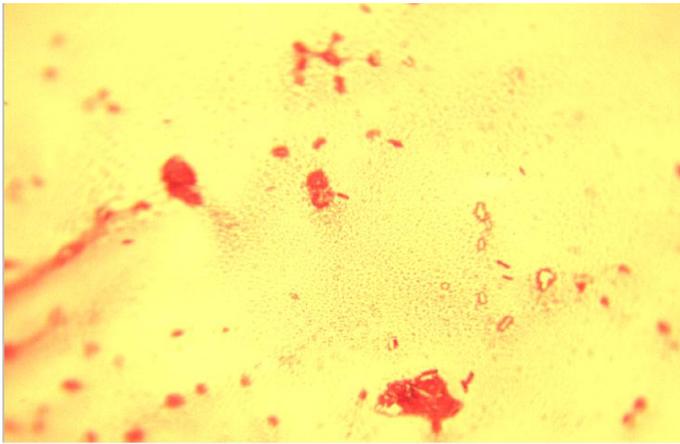
PH 7.5

**Tompon phosphate: Pour 100ml**

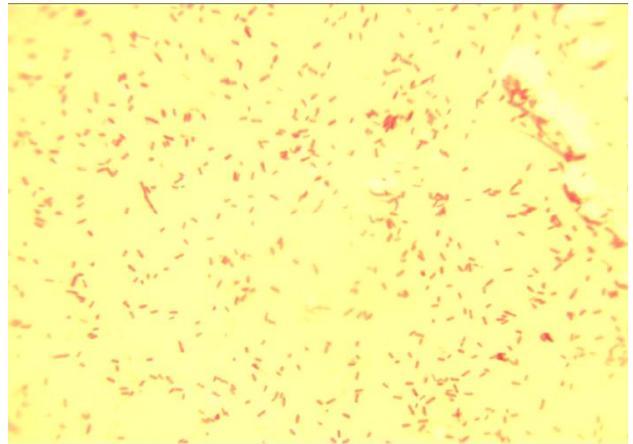
Phosphate monopotassique .....	5.4 g/L
Phosphate disodique .....	1.78g/L

Autoclavage 20min à 120 °C.

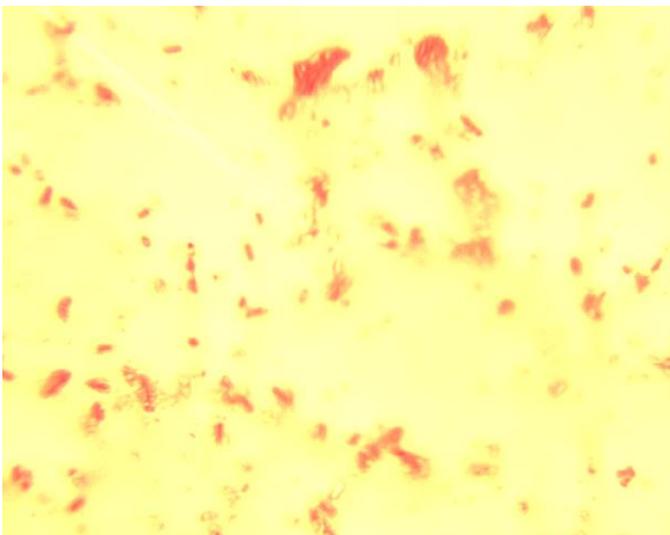
**Annexe 03 : Les résultats**



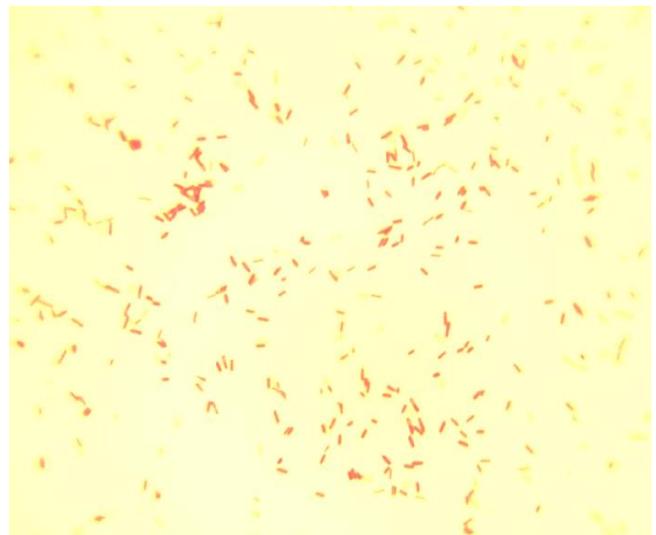
**Figure 01 : souche 1**



**Figure 02 : souche 2**



**Figure 03 : souche 3**



**Figure 04: souche 4**

**Résultats d'identification morphologique (coloration de Gram)**



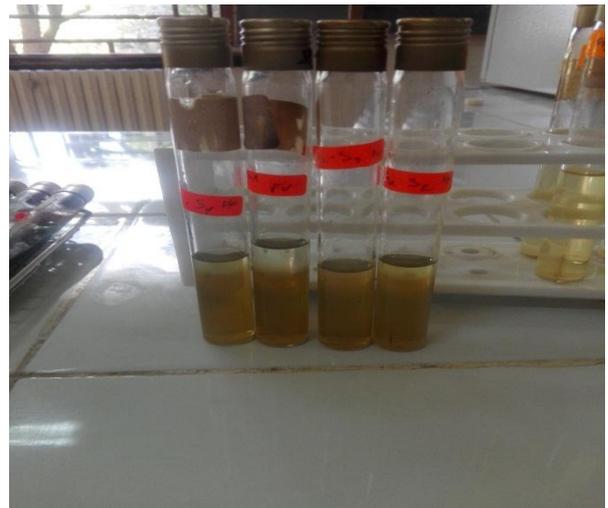
**Test TSI**



**Test de manitol mobilité**



**Test de citrate**



**Test viande de foie**

**Résultats d'identification biochimique**



Résultats d'adhérences des bactéries sur tube de verre