

Popular Democratic Republic of Algeria  
Ministry of High Education and Scientific Research  
Abbes Laghrou University- Khenchela-  
Natural and life sciences Faculty  
Molecular and Cellular Biology Department



N° de série : .....

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Sciences de la nature et de la vie**

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Microbiologie appliquée**

*Présenté par :*

***Kaouther MAAROUF            Insaf HANI***

**Thème**

Caractérisation physico-chimique et microbiologique  
des eaux thermales de la source Hammam Tamersite  
dans la région de khenchela \_Algérie\_

*Mémoire soutenu publiquement le 19 /06/ 2025 Devant le jury composé de :*

**M<sup>me</sup> Nozha MAYOUF**

MCA, Université Abbes Laghrou -Khenchela, Présidente

**M<sup>me</sup> Hanane MELLAL**

MCA, Université Abbes Laghrou -Khenchela , Encadrante

**M<sup>me</sup> Oumaima NAILI**

MCA, Université Abbes Laghrou -Khenchela , Examinatrice

Année Universitaire

2024-2025

## *Remerciements*

**N**os remerciements s'adressent avant tout à **ALLAH**, Le Tout-Puissant, pour nous avoir guidées, soutenues et accordé Sa grâce tout au long de notre vie personnelle et académique, et particulièrement durant la réalisation de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à **Dr. MELLAL Hanane**, notre encadrante, pour sa disponibilité, son accompagnement, sa patience, ses précieux conseils et ses encouragements constants. Nous la remercions sincèrement pour la confiance qu'elle nous a accordée et pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail.

Nous exprimons également nos vifs remerciements à **Dr. MAYOUF Nozha**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury,

Ainsi qu'à **Dr. NAILI Oumaima**, pour avoir accepté d'évaluer notre mémoire. Leur présence et leurs remarques constructives nous sont très précieuses.

Nos sincères remerciements vont également à **Pr. KADI Kenza**, responsable du laboratoire de Biotechnologie, Eau, Environnement et Santé, pour son accueil chaleureux et la mise à disposition des moyens nécessaires au bon déroulement de notre travail.

Nous remercions tout particulièrement la doctorante **BOUTERAA Houria** pour son aide précieuse, sa disponibilité et ses conseils pertinents, qui nous ont beaucoup aidées dans l'avancement de ce travail.

Nos remerciements vont aussi aux doctorants **BENTOUNSI Housseem** et **BELHOUCINE Abdelouaheb**, pour leur assistance et leur générosité tout au long de notre présence au laboratoire.

Nous n'oublions pas **Madame CHORFI Rafika**, responsable du complexe des laboratoires pédagogiques de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie d'El Hamma, ainsi que les ingénieures du laboratoire de microbiologie **M<sup>me</sup>MIZANE Sarah**, **M<sup>me</sup> Bahia** et **M<sup>me</sup> Hanane**, pour leurs appuis techniques, leurs disponibilités et leurs bienveillances.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, ainsi que nos camarades et ami(e)s pour leur soutien moral, leur bonne humeur et leur présence tout au long de ce parcours.



## Dédicace

*Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste Travail.*

### *À la prunelle de mes yeux*

*Ce mémoire est le fruit de ton courage, de ton soutien et de ta tendresse. Merci pour toutes les prières et les paroles de bénédiction, le soutien que tu m'as apporté durant les moments difficiles que j'ai traversés tout au long de ma vie. Que Dieu te préserve et te récompense pour chaque effort, chaque prière, chaque mot d'encouragement.*

### *À mon père, pilier de ma vie*

*Je dédie ce mémoire à mon père, pour son amour, son soutien constant et sa confiance en moi. Merci d'avoir toujours cru en mes capacités et de m'avoir encouragé à poursuivre mes rêves. Je suis fière d'être ton fille, "Qu'Allah t'accorde longue vie, santé et baraka".*

*À mes frères bien-aimés, «Chaker, Djellel, Mohcen, Oussama et Nizar». Vous avez été ma force dans les moments d'incertitude, mon refuge dans les moments de doute, et ma motivation quand il fallait avancer, vos encouragements, votre patience et votre amour fraternel ont été essentiels tout au long de ce parcours. Je vous dédie ce mémoire en signe de gratitude et d'amour fraternel. et merci d'avoir toujours été là.*

*À mes sœurs adorées, «Manel et Fouziya». Votre tendresse, vos mots réconfortants et votre présence à mes côtés ont été une source de force et d'apaisement tout au long de ce parcours. Merci pour votre amour inconditionnel, pour votre patience et pour tous ces moments partagés qui m'ont donné du courage. Ce mémoire vous est dédié, avec tout mon amour et ma profonde reconnaissance.*

*Je dédie ce travail aux épouses de mes frères, «Kenza» et «Mouna» En témoignage de ma profonde reconnaissance pour leur soutien constant, leur compréhension et leur présence bienveillante tout au long de ce parcours.*

*À mon cher oncle «Hassane» et sa femme «Saaida», pour leur présence bienveillante à mes côtés durant les moments difficiles, pour leurs conseils précieux et leur soutien indéfectible.*

*À ma tante bien-aimée «Fatma» et à ses enfants, pour leurs prières sincères, leur encouragement constant et leur amour inestimable. Merci à vous, du fond du cœur.*

*Sans oublier mon Binôme «Kawther» et sa famille, pour les bons moments passés ensemble.*

*À mes chères amies et à mes précieuses copines, en particulier Naima, Oumaima, Asma, Selma et Wissel pour leur présence, leur écoute et leur bienveillance dans chaque étape de ce parcours.*

*Enfin, je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidé de le réaliser de près ou de loin sans exception.*

**Insaf**



## إهداء

إلى من كانت سببًا في وجودي، ونورًا في عمتي، وملاذًا لا يُضاهى  
إلى من حملتني حبًا قبل أن أحملها همًا، وسهرت على راحتني حين غفلت الدنيا عني  
إليك يا أمي، يا وطنًا لا يُبدّل، ويا نعمةً أحمد الله عليها كل يوم  
أهديك ثمرة تعبي، فهي قطرة في بحر عطائك الذي لا يُقاس  
إلى والدي العزيز،  
يا من كنت الصخرة التي اتكأْتُ عليها، والسند الذي أفتخر به  
شكرًا ليدريك اللتين لم تبخلا يومًا، ولقلبك الذي وسع كل أحلامي  
إليك أهدي هذا العمل، عرفانًا وتقديرًا لا يُختصر في كلمات  
إلى أخواتي العزيزتين، سلسبيل واسمهان  
يا من كانت ضحكاتكما بلسمًا في لحظات التعب، ورفقتكما سكنًا للروح  
لكما مني كل الحب، فأنتم رفيقتنا الدرب والمكان الأجل في قلبي  
إلى عائلتي الكريمة،  
كل لحظة دعم، كل كلمة طيبة، كل دعوة صادقة منكم، كانت دافعًا لي للاستمرار  
شكرًا لكم من أعماق قلبي، فأنتم الجذر الذي أنتمي إليه  
إلى روح جدي الطاهرة،  
رحلت عن الدنيا ولكنك لم ترحل عن القلب  
ستظل دعواتي ترافقك، وهذا الإهداء عربون وفاء لذكراك الطيبة  
رحمك الله وأسكنك فسيح جناته  
إلى خالتي أمال،  
يا من كنت دائمًا الحُضن الدافئ، والكلمة الطيبة، والابتسامة التي تبعث السكينة  
أهديك هذا الإنجاز امتنانًا لكل حبك ومساندتك  
إلى صديقتي إنصاف  
رفيقة الأيام الصعبة، ومن شاركنني الهم والفرح، شكرًا لصدقك ولأنك كنت دائمًا هنا  
وإلى صديقتي نور، صاحبة الروح النقيّة والقلب الواسع  
أهديك هذا العمل عربون وفاء وتقدير، شكرًا لوجودك الثمين  
إلى كل من كان له أثر في طريقي، دعاء، ابتسامة، أو كلمة طيبة  
لكم مني كل المحبة، وهذا الإنجاز هو لكم كما هو لي سلمى، ليندة

كوثر

## Caractérisation physico-chimique et microbiologique des eaux thermales de la source : Hammam Tamersite

### Résumé

Cette étude porte sur la caractérisation physico-chimique et microbiologique des eaux thermales de la source Hammam Tamersite (Khenchela, Algérie), un écosystème naturel peu exploré, favorable à l'isolement de bactéries thermophiles à potentiel biotechnologique. L'objectif était d'isoler, d'identifier et de caractériser ces bactéries, ainsi que d'évaluer leurs propriétés physiologiques et enzymatiques. Dix souches thermophiles ont été isolées à 45 °C sur différents milieux. La caractérisation phénotypique (morphologique et biochimique) des isolats a révélé une diversité remarquable : formes variées (Cocci, Bacilles, Cocco-Bacilles), la majorité des isolats sont Gram positif (8/10), et profils enzymatiques distincts. La plupart étaient catalase-positives, avec des activités variables en oxydase, amylase, caséinase et gélatinase. Les souches E3, E4 et E12 ont montré plusieurs activités hydrolytiques, suggérant un potentiel enzymatique intéressant. Toutes les souches ont présenté une croissance optimale entre 37 et 45 °C, avec une bonne tolérance aux pH modérément acides à basiques. Par ailleurs, elles ont démontré une halotolérance modérée, supportant des concentrations croissantes de NaCl, ce qui confirme leur capacité d'adaptation à des conditions environnementales extrêmes. L'identification a permis de distinguer six genres bactériens : *Geobacillus*, *Anoxybacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Thermus*, et *Acinetobacter*. Ces résultats soulignent le potentiel biotechnologique de cette microflore et ouvrent la voie à des recherches futures, incluant le séquençage rRNA 16S, la purification enzymatique et l'étude des propriétés antimicrobienne.

**Mots clés** : Eaux thermales, Source Hammam Tamersite, Bactéries thermophiles, Potentiel biotechnologique, Caractérisation phénotypique.

## Physico-chemical and microbiological characterization of thermal waters from the Hammam Tamersite spring

### Abstract

This study focuses on the physicochemical and microbiological characterization of thermal waters from the Hammam Tamersite spring (Khenchela, Algeria), an underexplored natural ecosystem favourable to the isolation of thermophilic bacteria with biotechnological potential. The aim was to isolate, identify, and characterize these bacteria, as well as to evaluate their physiological and enzymatic properties. Ten thermophilic strains were isolated at 45 °C on various culture media. Phenotypic characterization (morphological and biochemical) revealed remarkable diversity: various shapes (cocci, bacilli, coccobacilli), majority of strains are Gram-positive bacteria (8 out of 10), and distinct enzymatic profiles. Most strains were catalase-positive, with variable activities in oxidase, amylase, caseinase, and gelatinase tests. Strains E3, E4, and E12 showed several hydrolytic activities, indicating promising enzymatic potential. All strains exhibited optimal growth between 37 and 45 °C, with good tolerance to moderately acidic to basic pH levels. Additionally, they demonstrated moderate halotolerance, tolerating increasing concentrations of NaCl, confirming their adaptability to extreme environmental conditions. Identification revealed six bacterial genera: *Geobacillus*, *Anoxybacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Thermus*, and *Acinetobacter*. These results highlight the biotechnological potential of this microbial flora and pave the way for future investigations, including rRNA 16S sequencing, enzyme purification, and studies on antimicrobial properties.

**Keywords:** Thermal waters, Hammam Tamersite spring, Thermophilic bacteria, Biotechnological potential, Phenotypic characterization.

## التوصيف الفيزيائي-الكيميائي والميكروبيولوجي لمياه منبع حمام تمرسيت الحموية

### الملخص

تركز هذه الدراسة على التوصيف الفيزيائي-الكيميائي والميكروبيولوجي لمياه الينابيع الحارة من منبع حمام تمرسيت (خنشلة، الجزائر)، وهو نظام بيئي طبيعي لم يحظ بالكثير من الدراسة، ويوفر وسطاً ملائماً لعزل البكتيريا المحبة للحرارة ذات الإمكانيات البيوتكنولوجية. كان الهدف من الدراسة هو عزل هذه البكتيريا، تحديدها، وتوصيف خصائصها الفيزيولوجية والإنزيمية. تم عزل عشر سلالات محبة للحرارة عند درجة حرارة 45 °C على عدة أوساط زراعية. أظهر التوصيف الظاهري (الشكل والمزايا البيوكيميائية) تنوعاً ملحوظاً: أشكال مختلفة (كروية، عصوية، مكورة-عصوية)، تميزت أغلبية السلالات المعزولة بإيجابية الغرام (8 من أصل 10)، مع أنماط إنزيمية متنوعة. كما ان معظم السلالات كانت إيجابية لاختبار الكاتالاز، في حين أظهرت نتائج متباينة في اختبارات الأوكسيداز، والأميلاز، والكازيناز، والجيلاتيناز. أظهرت السلالات E3 و E4 و E12 عدة أنشطة تحليلية، مما يشير إلى قدرة إنزيمية كبيرة. جميع السلالات أبدت نمواً أمثل بين 37 و 45 °C، مع تحمل جيد لدرجات حموضة من الحمضي إلى القاعدي. علاوة على ذلك، أظهرت السلالات قدرة معتدلة على تحمل الملوحة، حيث تأقلمت مع تراكيز متزايدة من NaCl، مما يدل على قدرتها على التكيف مع الظروف البيئية القاسية. أظهر التحليل التصنيفي وجود ستة أجناس بكتيرية *Anoxybacillus*، *Geobacillus*، *Staphylococcus*، *Pseudomonas*، *Thermus*، و *Acinetobacter*. تبرز هذه النتائج الإمكانيات البيوتكنولوجية لهذه السلالات البكتيرية، وتفتح آفاقاً لبحوث مستقبلية تشمل تسلسل جين rARN 16s، وتنقية الإنزيمات، ودراسة الخصائص المضادة للميكروبات.

**الكلمات المفتاحية:** المياه الحارة، منبع حمام تمرسيت، بكتيريا محبة للحرارة، الإمكانيات البيوتكنولوجية، التوصيف الظاهري.

# Table des Matières

## Table de matières

Résumé en Français

Abstract

ملخص

Table des Matières

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des Photographies

Liste des Abréviations

Introduction générale..... 01

## Partie I. Synthèse bibliographique

### I – les eaux thermales

I.1. Historique.....	03
I.2. L'eau thermale.....	03
I. 3. L'origine.....	04
I. 4. Classification des eaux thermales.....	04
I. 4. 1.Selon la température d'émergence.....	05
I. 4. 2. Selon la composition chimique.....	06
I. 4. 3.Selon la minéralisation.....	07
I. 5. Eaux thermales en Algérie.....	07
I. 6.L'eau thermale de kenchela.....	08
I. 7. Contrôle des eaux thermales.....	10
I. 7. 1. Le contrôle microbiologique des eaux thermales.....	10
I. 7. 2. Le contrôle physico-chimiques des eaux thermales.....	10
I. 7. 3. Le contrôle de la radioactivité des eaux thermales.....	11
I. 8. Normes de qualité des eaux thermales.....	11

### II- biodiversité microbienne dans les sources thermales

II. 1. La Thermophilie.....	12
II. 2. Phylogénie des thermophiles.....	13
II. 3. Habitats des microorganismes thermophiles et hyperthermophiles.....	14
II. 3. 1. Les habitats naturels.....	14
II. 3. 2. Les habitats artificiels.....	15

## Table des Matières

II. 4. Diversité taxonomique et métabolique des thermophiles.....	15
II. 4. 1. Les bactéries thermophiles autotrophes.....	15
II. 4. 2. Les bactéries thermophiles hétérotrophes.....	16
II. 4. 3. Les bactéries thermophiles phototrophes.....	16
II. 4. 4. Les bactéries thermophiles chimiolithotrophes.....	16
II. 5. Adaptations physiologiques à la thermophilie.....	16
II. 5. 1. Les protéines.....	17
II. 5. 2. Les lipides.....	17
II. 5. 3. Acides nucléiques.....	18
II. 5. 4. La membrane cytoplasmique.....	18

### III. Applications des microorganismes thermophiles

III. 1. Utilisation directe des thermophiles.....	19
III. 1. 1. Les biocarburants.....	19
III. 1. 2. Agents de minéralisation.....	20
III. 2. Applications basées sur les biomolécules.....	20
III. 2. 1. Les enzymes thermostables.....	20
III. 2. 1. 1. Biologie moléculaire : Taq polymérase.....	21

## Partie II. Matériel et méthodes

1. Objectif du travail.....	23
2. Description du site d'échantillonnage.....	23
3. Echantillonnage-.....	24
3. 1. Préparation du matériel.....	24
4. Analyse physico-chimique.....	25
4. 1. Appréciation de la qualité organoleptique.....	25
4. 1. 2. Paramètres physico-chimiques.....	25
5. Isolement, purification et conservation des isolats.....	25
6. Identification des isolats.....	26
6. 1. Caractérisation morphologique et culturale.....	26
6. 1. 1. Caractérisation macroscopique.....	26
6. 1. 2. Caractérisation microscopique.....	26
6. 2. Caractérisation physiologique.....	26
6. 2. 1. Influence de la température.....	26

## Table des Matières

6. 2. 2. Influence de la salinité.....	26
6. 2. 3. Influence du pH.....	27
6. 3. Mise en évidence du métabolisme protéique.....	27
6. 3. 1. Amylase.....	27
6. 3. 2. Protéases.....	27
6. 3. 2. 1. Hydrolyse de la caséine.....	27
6. 3. 2. 2. Hydrolyse de la gélatine.....	27
6. 3. 3. Activités lipolytiques (hydrolyse des Tween 20 et 80).....	28
6. 4. Caractérisation biochimique.....	28
6. 4. 1. Test de catalase.....	28
6. 4. 2. Test de Cytochrome oxydase.....	28
6. 4. 3. Recherche de L'ONPG-hydrolase Principe.....	28

### Partie III. Résultats et Discussions

I. Résultats de l'analyse physicochimique des échantillons d'eau.....	29
I. 1. Paramètres organiques.....	29
I. 2. Paramètres électrochimiques.....	29
I. 3. Paramètres volumétriques.....	31
I. 4. Paramètres spectrophotométrie.....	33
II. Isolement et identification des bactéries.....	34
II. 1. Isolement et purification des bactéries.....	34
II. 2. Caractérisation Morphologique.....	39
II. 2. 1. Aspects macroscopique et microscopique des souches étudiées.....	35
II. 3. Caractérisation biochimique.....	38
II. 3. 1. Recherches des enzymes respiratoires.....	38
II. 3. 1. 1. Test de la Catalase.....	38
II. 3. 1. 2. Test Oxydase.....	38
II. 3. 1. 3. Test ONPG.....	39
II. 4. Mise en évidence d'activités hydrolytiques extracellulaires des souches obtenues	40
II. 5. Caractérisation physiologique des souches.....	42
II. 5. 1. Influence de la température sur la croissance.....	42
II. 5. 2. Influence du pH sur la croissance des isolats étudiées.....	43
II. 5. 3. Influence de la concentration de l' NaCl sur la croissance des isolats étudiées...	44

## Table des Matières

---

<b>II. 6. Identification des isolats.....</b>	<b>46</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>47</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>49</b>
<b>Annexes</b>	

## Liste des Tableaux

### LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b>	Classification des eaux thermales selon leur température.....	<b>05</b>
<b>Tableau 2</b>	Classification des eaux thermales en fonction de leur composition chimique.....	<b>06</b>
<b>Tableau 3</b>	Classification des eaux thermales en fonction de leur minéralisation...	<b>07</b>
<b>Tableau 4</b>	Liste des bains thermaux traditionnels de l'Algérie.....	<b>09</b>
<b>Tableau 5</b>	Enzymes thermostables avec leur température optimale. ....	<b>21</b>
<b>Tableau 6</b>	Enzymes thermostables et leurs applications.....	<b>22</b>
<b>Tableau 7</b>	Caractéristiques organoleptiques de l'eau de la source thermale de Hammam Tamersit.....	<b>29</b>
<b>Tableau 8</b>	Paramètres physico-chimiques de la source thermale de Hammam Tamersit comparés aux valeurs typiques des eaux thermales.....	<b>29</b>
<b>Tableau 9</b>	Concentrations des principaux ions dans l'eau thermale de Hammam Tamersit comparées aux valeurs typiques des eaux thermales.....	<b>30</b>
<b>Tableau 10</b>	Évaluation des éléments traces et ions majeurs dans l'eau thermale de Hammam Tamersit.....	<b>31</b>
<b>Tableau 11</b>	Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des isolats bactériens issus de la source thermale de Hammam Tamersit.....	<b>38</b>
<b>Tableau 12</b>	Caractérisation biochimique des isolats.....	<b>39</b>
<b>Tableau 13</b>	Résultats des tests enzymatiques des souches isolées.....	<b>40</b>
<b>Tableau 14</b>	Résultats de l'influence de la température sur les isolats étudiés.....	<b>42</b>
<b>Tableau 15</b>	Résultats de l'influence du PH sur les isolats étudiés.....	<b>43</b>

## Liste des Tableaux

---

<b>Tableau 16</b>	Résultats de l'influence de la concentration d'NaCl sur les isolats étudiés.....	<b>45</b>
<b>Tableau 17</b>	Classification présumée des isolats bactériens issus d'eau thermale, en référence au <i>Bergey's Manual of Systematic Bacteriology</i> .....	<b>46</b>

## Liste des Figures

---

### LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b>	Représentation schématique des étapes de la formation d'une source thermale .....	<b>04</b>
<b>Figure 2</b>	Source thermale.....	<b>05</b>
<b>Figure 3</b>	Carte et sources et bains thermaux traditionnels pouvant abriter des projets thermaux.....	<b>08</b>
<b>Figure4</b>	Arbre phylogénétique.....	<b>13</b>
<b>Figure 5</b>	La thermophilie dans les trois domaines du vivant.....	<b>14</b>

## Liste des Photographies

---

### LISTE DES PHOTOGRAPHIES

<b>Photographie 1</b>	Complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma(Khenchela).....	<b>23</b>
<b>Photographie 2</b>	Zone de prélèvement « Hammam Tamersit ».....	<b>24</b>
<b>Photographie 3</b>	Photographies des échantillons et du thermomètre utilisé.....	<b>25</b>
<b>Photographie 4</b>	Aspect macroscopique des souches étudiées.....	<b>36</b>
<b>Photographie 5</b>	Observation microscopique des souches étudiées, réalisée au microscope photonique avec un grossissement de $\times 100$ .....	<b>37</b>
<b>Photographie 6</b>	Caractérisation biochimique des isolats.....	<b>39</b>
<b>Photographie 7</b>	Les résultats des tests enzymatiques.....	<b>41</b>
<b>Photographie 8</b>	L'influence de Température sur les isolats étudiées.....	<b>42</b>
<b>Photographie 9</b>	L'influence du pH sur la croissance les isolats étudiées.....	<b>43</b>
<b>Photographie10</b>	L'influence de la concentration d'NaCl sur la croissance les isolats étudiées .....	<b>45</b>

## Liste des Abréviations

### LISTE DES ABRÉVIATIONS

<b>EMN</b>	Eau Minérale Naturelle.....
<b>ARNr</b>	Acide Ribonucléique ribosomique.....
<b>JORA</b>	Journal Officiel de la République Algérienne .....
<b>DGS</b>	Direction Générale de la Santé.....
<b>U-238</b>	Uranium-238 .....
<b>U-235</b>	Uranium-235.....
<b>Th-232</b>	Thorium-232.....
<b>K-40</b>	Potassium-40.....
<b>C20-C40</b>	Chaînes d'alcane composées de 20 à 40 atomes de carbone.....
<b>CoA</b>	Coenzyme A.....
<b>MFC</b>	Microbial Fuel Cells (piles à combustible microbiennes) .....
<b>PCR</b>	Réaction en Chaîne par Polymérase (Polymerase Chain Reaction).....
<b>Taq</b>	ADN polymérase thermostable issue de <i>Thermus aquaticus</i> .....
<b>OD</b>	Oxygène Dissous (quantité d'oxygène présent dans l'eau) .....
<b>μS/cm</b>	Microsiemens par centimètre, unité de mesure de la conductivité électrique de l'eau (indique la minéralisation).....
<b>TDS</b>	Total Dissolved Solids (Solides Totaux Dissous), exprimé en mg/L, mesure la concentration totale en substances dissoutes dans l'eau.....
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	ion bicarbonate.....
<b>Art</b>	Article.....
<b>p/v</b>	Pourcentage poids/volume .....

# Introduction

---

Les eaux thermales sont des sources géothermiques naturelles ou des rejets naturels d'eaux souterraines ayant une température élevée par rapport à leur environnement (**Sherpa et al., 2013**), elles sont riches en minéraux et parfois en éléments microbiologiques spécifiques, sont reconnues depuis l'Antiquité pour leurs nombreux bienfaits thérapeutiques (**Ouali, 2008**). Elles possèdent des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques, régénérantes et apaisantes, en faisant un allié précieux pour soulager diverses affections chroniques telles que les douleurs rhumatismales, les troubles dermatologiques ou respiratoires. Leur pH proche de celui de la peau et leur composition isotoniques favorisent une hydratation en profondeur, renforcent la barrière cutanée, apaisent les irritations et inflammations, et stimulent la circulation sanguine pour une peau plus saine et éclatante. Ces bienfaits expliquent leur utilisation millénaire dans les cures de santé et les soins dermatologiques, confirmée par des études scientifiques et encadrée par les autorités sanitaires (**Boughari et Marouf, 2017**).

La wilaya de Khenchela, située dans l'est algérien, se distingue par la richesse et la diversité de ses sources thermales telles que Hammam Salihine, Hammam Djaarir et Hammam Tamersit. En tant que chercheurs originaires de cette région, notre choix s'est naturellement porté sur la source de Tamersit. Cette étude s'inscrit dans une volonté de valoriser le patrimoine naturel local à travers une analyse scientifique approfondie de la qualité de ses eaux thermales (**Guilal et al., 2022**).

Malgré la richesse en ressources hydrominérales de la région de Khenchela, la qualité réelle de ces eaux reste souvent méconnue, en particulier sur le plan microbiologique. Or, une connaissance approfondie de leurs caractéristiques est indispensable non seulement pour garantir leur sécurité sanitaire, mais aussi pour évaluer leur potentiel thérapeutique et économique. Cela soulève plusieurs questions fondamentales : Quelle est la composition physico-chimique exacte de l'eau thermale de Hammam Tamersit ? Présente-t-elle une charge microbiologique significative ?

Le principal objectif de ce travail est la caractérisation physicochimique de l'eau de hammam Tamersite à la région de khenchela puis l'isolement, l'identification et la caractérisation des bactéries thermophiles isolées à partir de cette dernière.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons réalisé les étapes suivantes :

1. La prospection et la détermination du site géographique de Hammam Tamersit.
2. L'isolement des isolats bactériens à partir de l'eau.
3. La caractérisation physico-chimique des échantillons d'eau.

4. Une caractérisation phénotypique des isolats obtenus, menée afin d'évaluer leurs propriétés morphologiques, biochimiques ainsi que leur activité enzymatique

Ce mémoire s'articule autour de trois grandes parties. La première partie présente une synthèse bibliographique permettant de situer notre travail dans son contexte scientifique. La deuxième partie est consacrée au matériel et aux méthodes utilisés pour chaque étape, depuis la mise en culture jusqu'à l'étude de différents caractères d'intérêt, susceptibles d'améliorer la qualité du produit par leur capacité à produire des enzymes efficaces. Enfin, la dernière partie est dédiée à l'analyse, à la discussion et à la comparaison des résultats obtenus avec ceux rapportés dans la littérature scientifique sur le même thème.

Ce travail se conclut par une synthèse générale comprenant une série de réflexions scientifiques ainsi que des perspectives de recherche à envisager dans un avenir proche.

Partie 1

# Synthèse Bibliographique

---

## I. les eaux thermales

### I. 1. Historique

Les eaux thermales ont toujours intéressé les êtres humains pour leur bienfait thérapeutique. Les sculptures découvertes dans les régions des hammams indiquent que bien avant l'époque romaine, des établissements balnéaires existaient à ces endroits. Mais ce sont surtout les romains qui ont le mieux développé les techniques de captation et de canalisation des eaux thermales (**Mekebret, 2017**). Les vestiges retrouvés dans les stations thermales datent de l'époque romaine, durant laquelle les Romains attachaient une grande importance aux sources thermales. Ils construisaient souvent leurs sites autour de ces ressources, comme en témoignent des lieux tels qu'Aquae Mauretaniae Cesarienne (Hammam Righa), Aquae Sirenses (Hammam Bouhanifia) et Aquae Chibilita Nae (Hammam Meskoutine).

Les sources thermales ont également été exploitées par les Arabes. Beaucoup de ces sources portent le nom d'un marabout qui a vécu dans la région, comme Hammam Bouhadjar, qui tire son nom de Sid Ahmed Bouhadjar, un marabout ayant résidé dans la tribu des Ouled Bouhadjar avant la colonisation française. Son mausolée se trouve au Sud-Est de Hammam Bouhadjar.

Les Turcs, également passionnés par les bains chauds, ont construit plusieurs bains dans les villes, avec des installations destinées à stocker l'eau de source. Sous l'occupation coloniale française, des hôpitaux thermaux ont été établis autour des sources pour traiter les blessés et les convalescents.

De nos jours, comme par le passé, les stations thermales sont très prisées par les Algériens pour divers traitements, notamment en rhumatologie, dermatologie et psychiatrie. (**Ouali, 2007**).

### I. 2. L'eau thermale

Les eaux thermales sont des eaux dont la température est supérieure à la température moyenne annuelle de la région, (**Benzerfa et al., 2021**). Elle possède des caractéristiques physicochimiques constantes pour chaque source (débit, température, concentration en minéraux et en gaz) et, ceci indépendamment des modifications climatiques et environnementales (saisons, pluviométrie, sécheresse). (**Chorfi et al., 2019**).

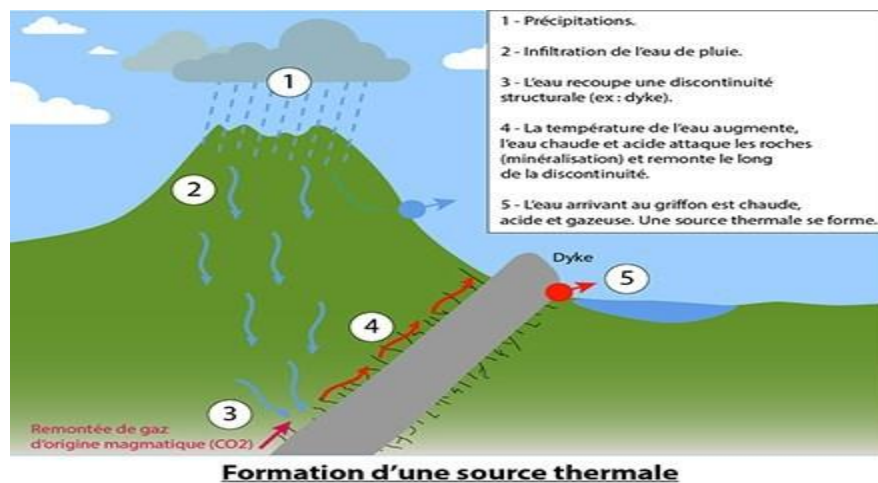
L'eau thermale est une eau minérale naturelle (EMN) qui jaillit de la terre à une température d'au moins 25 degrés Celsius (77 degrés Fahrenheit). Cette eau est extraite après plusieurs années de circulation entre les roches, Elle est riche en minéraux et en oligo-éléments, qui lui confèrent ses propriétés curatives, elle ne subit aucun traitement, (**Nguyen Ba, 2020**).

Selon le **JORA (2007)** en raison de la nature spéciale de leurs principes, de la stabilité de leurs caractéristiques physiques et de leurs compositions chimiques, peuvent avoir des propriétés thérapeutiques. « Une eau thermale a une température élevée à la source et des propriétés thérapeutiques » (Le petit robert, 1994).

### I. 3. L'origine

Une eau minérale naturelle peut avoir trois origines : superficielle, profonde ou mixte (**Auby, 1994**) (Fig 1).

- **Eaux minérales d'origine superficielles** : aussi appelées vadoses ou géothermales. Elles résultent des eaux de pluie qui s'infiltrent dans le sol et circulent profondément dans l'écorce terrestre grâce à la gravité, puis émergent à la surface par des fissures. Ce phénomène illustre le cycle hydrogéologique. (**Kanekar et Kanekar, 2022**)
- **Eau minérale d'origine profonde (juvénile)**: provenant de profondeurs, émergent des zones volcaniques et résultent de la condensation des gaz du magma. Elles restent piégées en dessous de la croûte terrestre et n'ont jamais été intégrées dans le cycle hydrologique. (**Liu et al., 2011**).
- **Eau minérale d'origine mixte** : La majorité des eaux minérales ont une origine mixte, elles résultent d'un mélange, dans des proportions variables lors de leur remontée, entre des eaux juvéniles d'origine profonde et des eaux vadoses superficielles. (**Auby J, 1994**).



**Figure 1** : Représentation schématique des étapes de la formation s'une source thermale  
 Source :1 <https://www.geocaching.com/geocache/GC7M75K> consulté lé 11/05/2025 à (10 h 48)

### I. 4. Classification des eaux thermales

L'eau thermale provient des profondeurs de la terre, ce qui explique sa thermalité naturelle (Fig 2) et sa composition chimique particulière. En effet la nature des roches qui

traversent par l'eau dans le processus souterrain rend l'eau plus ou moins puissante en cet élément chimique. La chaleur générée par l'échange eau /roche et le temps de contact entre l'eau et la roche sont également importants dans la minéralisation de l'eau thermique. On classe les eaux minérales en fonction de : leur température, leur origine géologique et leur composition chimique et minérale.



**Figure 2.** Source thermique. (Source : <https://www.momondo.fr/discover/sources-eau-chaudes-gratuites-france> consulté le 11/05/2025 à (11 h 51)

#### I. 4. 1. Classification Selon la température d'émergence

Selon **Issaâdi (1992)**, quatre types d'eaux thermales sont désignés en fonction de la température (Tab 1).

**Tableau 1.** Classification des eaux thermales selon leur température (**Issaâdi, 1992**)

Désignation	Température à l'émergence °C
<b>Eaux hypothermales</b>	La température à l'émergence est inférieure à celle de la partie supérieure de la zone d'homothermie ou à la température moyenne interannuelle du lieu d'émergence plus 4°C.
<b>Eaux métriothermales</b>	La température à l'émergence est inférieure à 30°C mais supérieure à celle des eaux hypo thermales.
<b>Eaux mésothermales</b>	La température à l'émergence est entre 30°C et 50°C.
<b>Eaux hyperthermales</b>	ce sont des eaux dont la température à l'émergence est supérieure à 50°C et inférieure à 100°C

#### I. 4. 2. Classification Selon la composition chimique

Cependant, la minéralisation totale ne permet pas de caractériser et de différencier les eaux minérales naturelles car ce paramètre ne prend pas en considération leur profil chimique. Donc la classification est basée sur la composition en sels minéraux caractéristiques, c'est-à-dire sur la présence et l'importance de divers anions et cations. (Richard C, 1996 ; Roques C. F, 2007)

Les eaux thermales sont classées en fonction de l'existence dans leur composition d'un anion soit par sa concentration, soit par sa nature chimique. A l'intérieur de ces divisions, on établit ensuite des subdivisions en fonction cette fois des cations présents. La classification chimique est composée de six groupes (Tab 2). (Georges, 2010).

**Tableau2.** Classification des eaux thermales en fonction de leur composition chimique (Georges, 2010).

Type d'eau	Composition	Teneur
Sulfurée	Présence de sulfures et d'hydrogène sulfurésodiques, (calciques, thiosulfatées, chlorosulfurées)	Sulfures > 0,3mg/l
Sulfatée	Anions sulfates prépondérants (sodiques magnésiennes, calciques)	Sulfates >200mg/l
Chlorurée sodique	Anions chlorures prépondérants (sodiques fortes, sodiques faibles)	Chlorure > 250mg/l et sodium > 200mg/L
Bicarbonates gazeuse	Anions bicarbonates prépondérants (sodiques, mixtes, calciques)	Hydrogénocarbonate > 1g/l et CO <sub>2</sub> > 250mg/l
Ferrugineuse	une forte teneur en fer, bien qu'elles soient accompagnées généralement de bicarbonates ou de sulfates	Fer bivalent > 0,5 mg/l
Ferrugineuse	Eaux oligométalliques, oligominérales	Riche en oligo-éléments

### I.4.3. Classification Selon la minéralisation

Les eaux thermales ont une teneur en sels minéraux très variable, ce qui leur confère des propriétés différentes. En effet, une eau faiblement minéralisée, qui se caractérise notamment par une résistivité élevée est très différente d'une eau fortement minéralisée.

La classification des eaux thermales en fonction de leur teneur en minéraux comporte cinq catégories allant de quelques milligrammes par litre à plusieurs grammes par litre. (Chwonice , 2007). Cette classification est détaillée dans le tableau 3.

**Tableau3.** Classification des eaux thermales en fonction de leur minéralisation. (Traissac et al., 1999)

Eau	Teneur en sels minéraux (exprimée en résidu fixe à 180°C)
Très faiblement minéralisée	< 50 mg/l
Faiblement minéralisée ou oligo-minérale	50 mg/l < [c] < 500 mg/l
Moyennement minéralisée	500 mg/l < [c] < 1 000 mg/l
Minéralisée	1 000 mg/l < [c] < 1500 mg/l
Fortement minéralisée	> 1500 mg/l

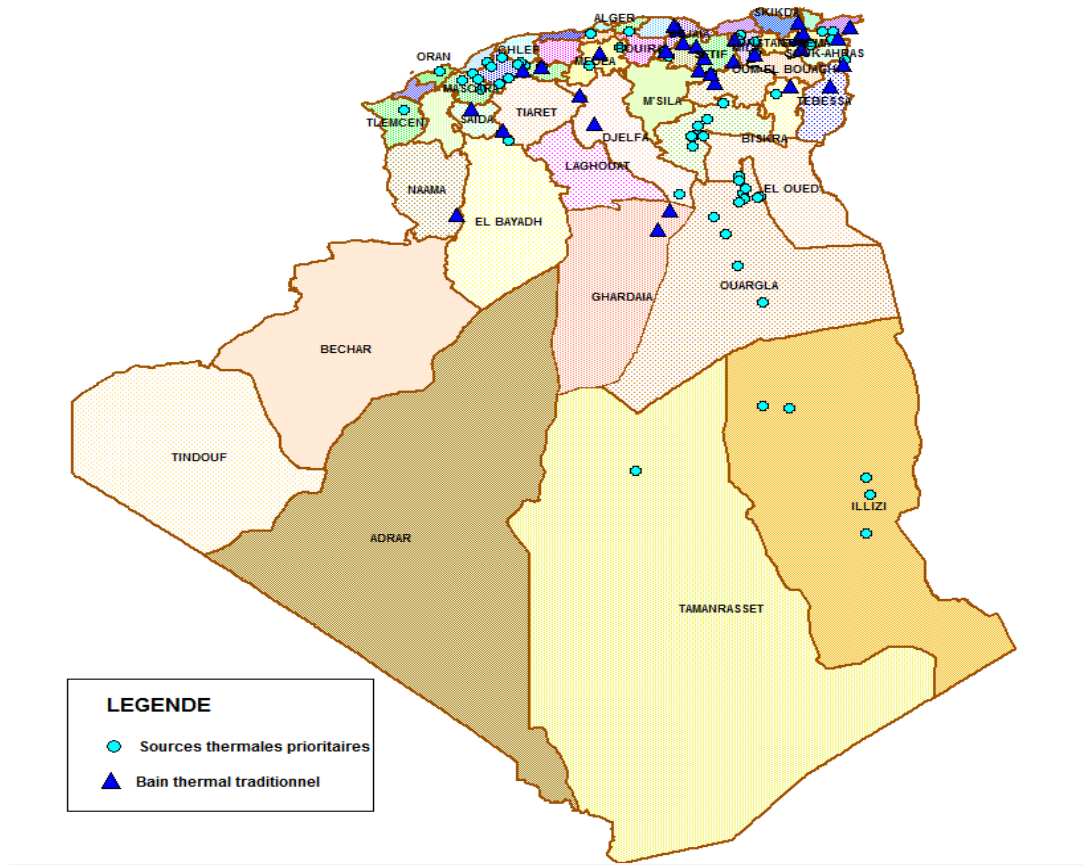
## I. 5. Eaux thermales en Algérie

L'Algérie dispose d'un potentiel thermal considérable réparti sur l'ensemble du territoire national, et caractérisé par la diversité des vertus thérapeutiques de ces eaux.

L'étude d'actualisation du bilan thermal réalisée en 2015, sur l'ensemble du territoire national, a permis d'identifier 282 sources thermales (émergence naturelle et forage). (Fig 3) En plus des 90 concessions déjà octroyées, et tenant compte des caractéristiques physico-chimiques et des valeurs thérapeutiques des eaux thermales, il existe actuellement près de 100 sources thermales pouvant abriter de nouveaux thermaux, dont 34 bains thermaux exploités de manière traditionnelle (Tab 4). (Source : <https://www.mta.gov.dz/thermalisme/?lang=fr> consulté le 11/05/2025 à 15h 48)

Les températures mesurées à l'émergence varient de 19°C à Ben Haroun à 98 °C à Hammam Debagh. (Ouali, 2008).

Le thermalisme de l'Algérie septentrionale est caractérisé par une forte concentration des sources chaudes au Nord, généralement liées à de grandes fractures affectant profondément les formations sédimentaires et parfois même le socle cristallin. (Chorfi et al., 2019).



**Figure 3.** Carte et sources et bains thermaux traditionnels pouvant abriter des projets thermaux (Source : <https://www.mta.gov.dz/thermalisme/?lang=fr> consulté le 11/05/2025 à 15h 54)

### I.6. L'eau thermale de khenchela

De part sa position géographique, la wilaya de Khenchela se trouve située aux portes des grandes villes du sud du pays et non éloignée des villes métropoles du Nord. Elle est intégrée dans la région "hauts plateaux" et dont la place et le rôle dans le développement du pays sont des plus importants. (Source : [https://interieur.gov.dz/Monographie/detail\\_axe.php?wilaya=40&type=potentialite#:~:text=Pour%20le%20Thermalisme%203B%20la%20Wilaya,existante%20C3%A0%20ravers%20le%20pays\).](https://interieur.gov.dz/Monographie/detail_axe.php?wilaya=40&type=potentialite#:~:text=Pour%20le%20Thermalisme%203B%20la%20Wilaya,existante%20C3%A0%20ravers%20le%20pays).) consulté le 11/05/2025 à 20h 04)

Le thermalisme à Khenchela repose sur l'utilisation d'eaux minérales naturelles pour des traitements médicaux. Les eaux thermo-minérales de cette région, riches en chlorures sodiques, sulfates et magnésium, offrent neuf indications thérapeutiques sur les douze reconnues

mondialement. Cependant, les données sur leurs caractéristiques thérapeutiques sont rares, la recherche se concentrant principalement sur les aspects physico-chimiques, hydrologiques et bactériologiques, sans études approfondies sur leurs propriétés curatives (Berkani et Houha, 2017).

**Tableau .4** Liste des bains thermaux traditionnels de l'Algérie (Source : <https://www.mta.gov.dz/thermalisme/?lang=fr#el-03ed6f09> consulté le 11/05/2025 à 16h 15

N°	Denomination	Commune	Wilaya
1	Hammam Elbibane	El Mhir	Bordj Bou Arreridj
2	Hammam Ibainan	El Main	
3	Hammam Guerjima	Gosbat	Batna
4	Hammam Sillal	Tifra	Bedjaia
5	Hammam Kiria	Adekar	
6	Hammam Maxna	Bougous	El Taref
7	Hammam Zatout	Bouhadjar	
8	Hammam Zaid	Bouhadjar	
9	Hammam Foussa	Guerrara	Gardaia
10	Hammam Zelfana	Zelfana	
11	Hammam Kharchiche	Hammam Debagh	Guelma
12	Hammam Ben nadji	Hammam Debagh	
13	Hammam Ouled Ali	Heleapolis	
14	Hammam El Guerfa	Ain Larbi	Djelfa
15	Hammam Charef	Charef	
16	Hammam Salhine	El Hamma	Khenchela
17	Hammam Salhine	BerrouaGhia	Media
18	Hammam Ouled Achour	El Ayady Barbes	Mila
19	Hammam Minan	Telaghma	
20	Hammam Menacer	Tlaghma	
21	Hammam Ain Ouarka	Asala	Naama
22	Hammam Sidi Aissa	Sidi Amar	Saida
23	Hammam Ain Skhouna	Ain Skhouna	
24	Hammam Ouled Yeles	Ouled Yeles	Sétif
25	Hammam Sidi Amer	El Hama	
26	Hammam Sidi El Djoudi	Hammam Guergour	
27	Hammam Sokhna	Hammam Sokhna	
28	Hammam Sidi Mansour	Ouled Tebben	
29	Hammam Bouhdjar	Sidi Ayad	Ain Temouchent
30	Hammam Sidi Yahia	El Meridj	Tebessa
31	Hammamet	Hammamet	
32	Hammam Serguine	Serguine	Tiaret
33	Hammam El baraka	Sidi Slimane	Tissimsilt
34	Hammam Mentila	Ani Moussa	Relizane

## I. 7. Contrôle des eaux thermales

Les eaux thermales ont une composition physico-chimique et bactériologique particulière **(Décrit exécutif N°04-196., 2004)**

### I. 7. 1. Le contrôle microbiologique des eaux thermales

Le contrôle microbiologique des eaux thermales consiste à détecter des micro-organismes nuisibles, y compris les pathogènes (*Legionella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) et les contaminations fécales (*Escherichia coli*, entérocoques). Il analyse également la flore microbienne sur 15 jours à 37°C. Certains coliformes non fécaux, comme *Serratia fonticola* et *Enterobacter agglomerans*, sont naturellement présents sans danger pour la santé **(DGS, 2000)**.

L'intérêt récent pour la composition microbiologique des eaux thermales, facilité par des avancées techniques, a révélé que ces eaux, longtemps considérées stériles, favorisent en réalité le développement de bactéries. Leur isolement, leur temps de résidence prolongé et des conditions chimiques stables offrent un environnement propice à une flore microbienne autochtone variée, influencée par des facteurs tels que la température et le pH **(Cacciapuoti et al., 2020)**.

Au même titre que les caractéristiques physico-chimiques des EMN, la composition biologique de ces milieux est d'une constance remarquable **(Bourrain et al., 2020)**

Cette microflore, encore mal comprise, présente un potentiel intéressant pour les biotechnologies, avec des espèces uniques comme *Aquaphilus dolomiae* **(Lebaron, 2020)**. La composition microbiologique des eaux thermales est rigoureusement surveillée durant leur exploitation pour détecter des bactéries pathogènes, tout en préservant les microorganismes bénéfiques qui pourraient contribuer à la santé humaine **(Zeichner et Seite, 2018)**.

### I. 7. 2. Le contrôle physico-chimiques des eaux thermales

#### ➤ Température

La température est le principal facteur déterminant la distribution des microorganismes thermophiles, notamment les bactéries, qui croissent et survivent à des températures comprises entre 50°C et 121°C. Chaque espèce thermophile a une température optimale spécifique pour sa croissance. **(Alain et al., 2014)**.

### ➤ Le pH

Le pH est un facteur clé pour la composition des communautés microbiennes thermophiles. La plupart des thermophiles se développent dans des environnements neutres à légèrement acides (pH 6-8). Cependant, certains thermophiles acidophiles prospèrent à des pH très bas (inférieurs à 2), tandis que d'autres alcalophiles préfèrent des pH élevés (supérieurs à 9) (Larbi, 2016).

### ➤ La salinité

Les thermophiles halophiles ont évolué pour survivre dans des environnements salins, tels que les lacs salés et les sources chaudes marines, pouvant tolérer de très fortes concentrations de sel. En revanche, les thermophiles non halophiles sont sensibles à la salinité et ne survivent que dans des milieux à faible concentration en NaCl. (Benzerfa et al., 2021).

### I. 7. 3. Le contrôle de la radioactivité des eaux thermales

Ce contrôle est essentiel en raison de leur origine géologique, souvent associée à des plaques tectoniques et des terrains volcaniques (Florou et Kritidis, 1992). Ces eaux peuvent contenir des éléments radioactifs naturels, principalement l'Uranium-238, l'Uranium-235, le Thorium-232, et le Potassium-40, en fonction de divers facteurs géologiques (Brillanceau et Hubert, 1998). Les radioéléments préoccupants incluent le Radium-226 et le Tritium, en raison de leur longue période radioactive et de leurs effets biologiques, notamment par ingestion ou inhalation (Wrenn et al., 1985).

### I. 8. Normes de qualité des eaux thermales

La législation algérienne par des positions des articles 2 et 5 du J.O.A N°07, le décret exécutif du 07/02/1994 sont :

- **Art. 7** : Les eaux thermales font l'objet d'une reconnaissance et sont soumises impérativement à des analyses microbiologiques.
- **Art. 8** : La reconnaissance des eaux thermales consiste en l'évaluation de l'importance de leurs ressources, l'identification de leurs caractéristiques et la détermination des propriétés thérapeutiques et des soins curatifs correspondants. Elle est certifiée par des laboratoires agréés conformément à la réglementation en vigueur.
- **Art. 9** : Peuvent demander la reconnaissance des eaux thermales : tout titulaire d'une autorisation de travaux de recherche et de captage d'eau obtenue conformément aux dispositions en vigueur en la matière et désirant exploiter le griffon à des fins thérapeutiques (Labgaa et Labeled, 2018).

## II. biodiversité microbienne dans les sources thermales

### II. 1. La Thermophilie

La relation des organismes vivants à la température a longtemps été considérée en biologie comme un élément de base de classification. (**Madigan et Martinko, 2007; Alain et al., 2010**).

Les thermophiles, sont des organismes vivants à des températures optimales de croissance comprises entre 50 et 80°C (**Holden, 2009**), Les microorganismes thermophiles ont capté le plus d'attention et sont parmi les plus étudiés des extrémophiles (**Gomes et Steiner, 2004**).

Plusieurs définitions ont été proposées pour définir la thermophilie. La plus reconnue est celle qui a été proposée par Thomas Brock, le microbiologiste à l'origine de la découverte des micro-organismes thermophiles. Selon cette définition, « un thermophile est un être vivant dont la température optimale de croissance se situe au-dessus de 60 °C ». Une définition plus pratique et plus large a été proposée par Karl Stetter et qualifie d'organismes thermophiles, tous les êtres vivants se développant à des températures supérieures à 45 °C. Cette dernière définition est intéressante car elle définit deux sous catégories au sein des thermophiles :

- Les thermophiles dont la température de croissance se situe au-delà de 45 °C (**Alain et al., 2010**).
- Les hyper-thermophiles dont la  $T_{opt}$  de croissance est au-delà de 80 °C (**Madigan et Martinko, 2007**)

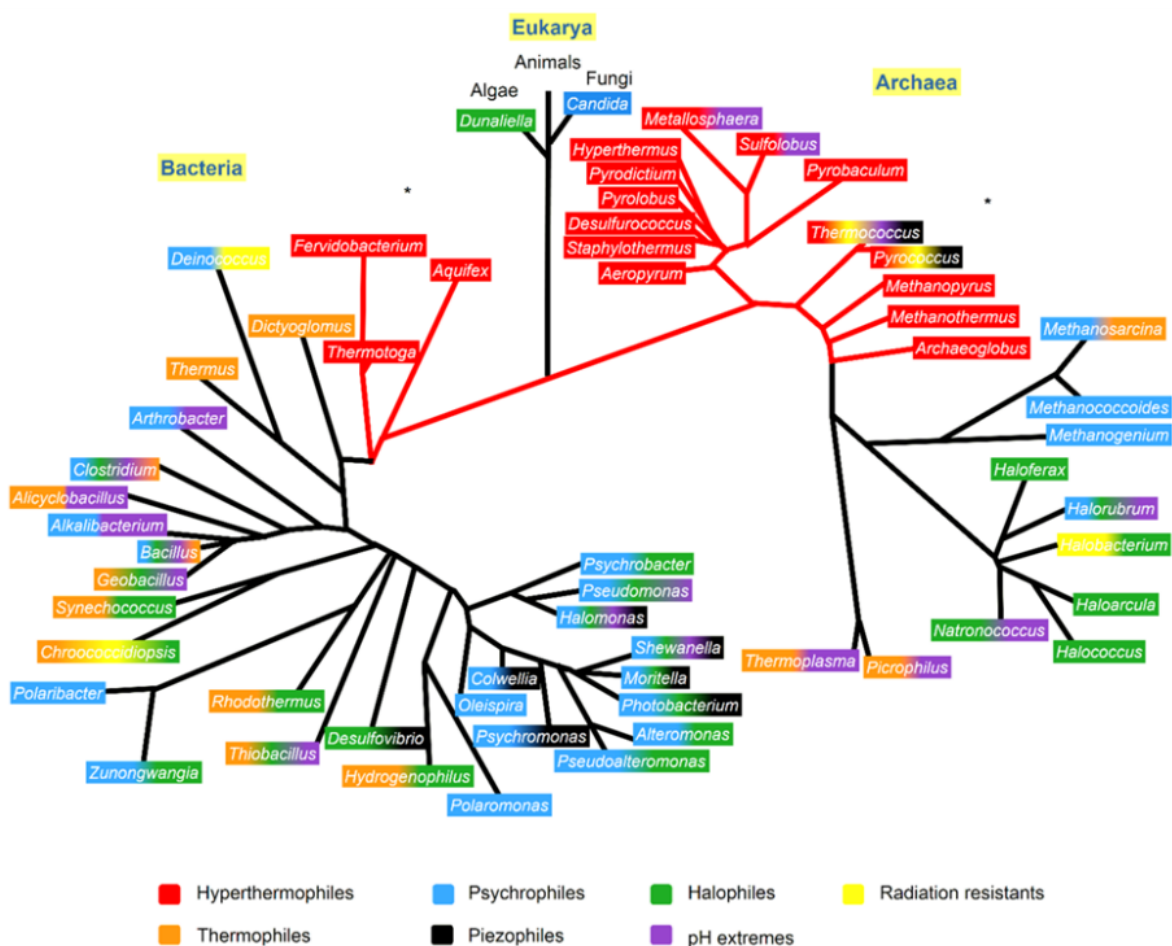
Le record est actuellement détenu par une archéobactérie, baptisée Strain 121°C, découverte dans une source hydrothermale du Pacifique par 2 400 m de profondeur et qui se multiplie encore à 121 °C. Elle résiste même sans dommage à des températures de 130 °C (**Vittorio, 2000**).

Les plus connues des bactéries thermophiles sont *Bacillus stearothermophilus* (T max 60°C), une thermophile modérée Gram positif proche de *Bacillus subtilis*, *Thermus aquaticus* (T max 70°C) et *Thermus thermophilus* (T max 80°C). Les bactéries du genre *Thermus* appartiennent au même groupe bactérien que la bactérie radiorésistance *Deinococcus radiodurans* (ce sont des bactéries Gram négatives très éloignées d'*E. coli*). Ces thermophiles bactériens sont tous aérobies et hétérotrophes (**Jean, 1991**). Les hyperthermophiles bactériens appartiennent aux genres *Thermotoga* et *Aquifex*. Les plus connus sont *Thermotoga maritima*

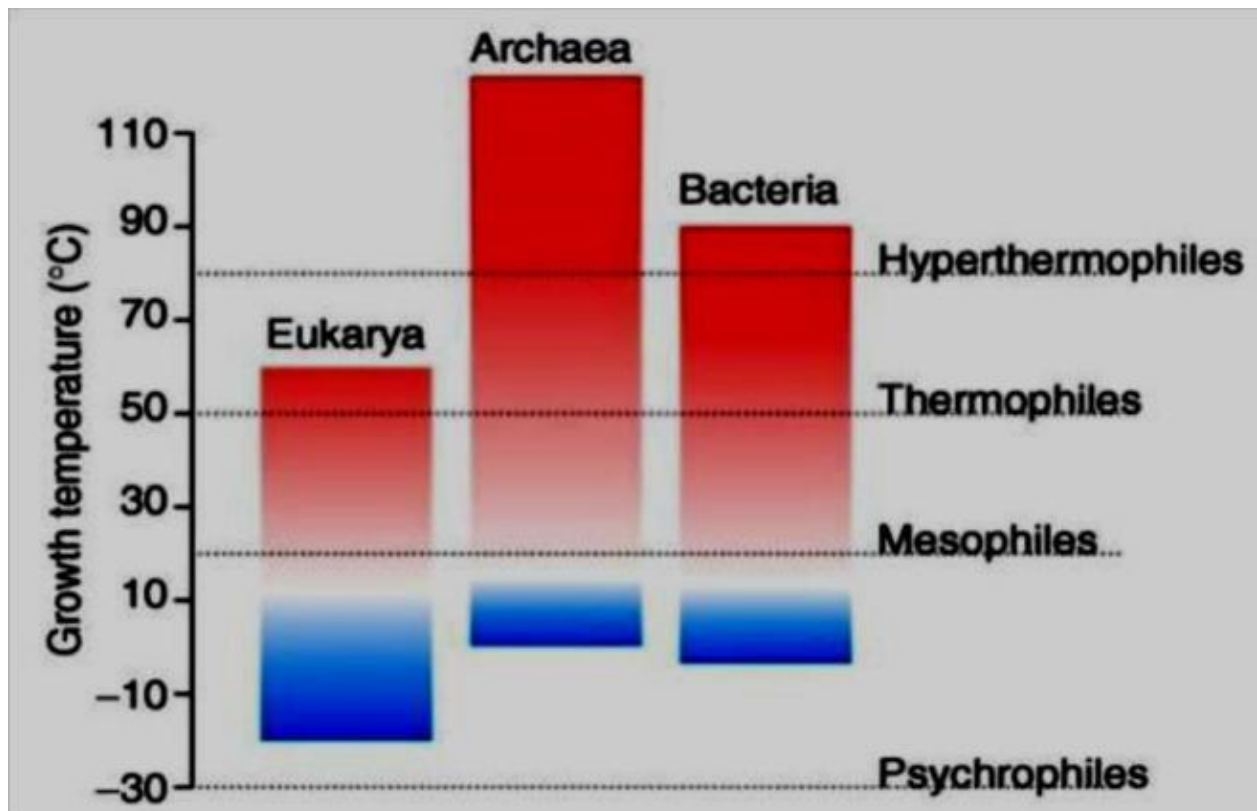
(T max 90°C) et *Aquife xpyrophilus* (T max 95°C). Ces hyperthermophiles branchent en premier dans l'arbre des ARNr 16S, ce sont des bactéries anaérobies (*Thermotoga*) ou microaérobies (*Aquifex*), elles sont hétérotrophes (*Thermotoga*) ou chemo-litoautotrophes (*Aquifex*). (André, 2003).

## II. 2. Phylogénie des thermophiles

Les études phylogénétiques basées sur l'analyse de l'ARN ribosomal ont permis de mettre en évidence l'existence de trois domaines du vivant Bacteria, Archaea, et Eucarya (Fig 4) (Woese, 1990). (Fig 4). Cette division a été confirmée par les résultats de la génomique (Querellou et Guezennec, 2010). Les trois domaines de la vie sont désignés dans chaque type d'habitat extrême. Cependant, la grande majorité des extrémophiles sont des bactéries et des archées, ce qui n'est pas nouveau compte tenu de leur diversité et de leur adaptabilité remarquables (Rafael et al., 2022). (Fig 5).



**Figure 4.** Arbre phylogénétique codé par couleur présentant les extrémophiles et les traits de résistance trouvés dans au moins chez une espèce de chaque genre. (Leal-dalmaso et al., 2015).



**Figure 5.** La thermophilie dans les trois domaines du vivant (Hickey et Singer, 2004).

Les thermophiles et hyperthermophiles sont des microorganismes qui se développent et survivent dans les environnements à haute température (Sarmiento *et al.*, 2015), dans les sources chaudes, subsistent et prospèrent dans les conditions de températures extrêmes (45°C – 122°C) (El Gayar *et al.*, 2017). Elles ont été moins explorées en raison de difficultés d'isolement et de maintien en culture pure (Panda *et al.*, 2013).

### II. 3. Habitats des microorganismes thermophiles et hyperthermophiles

En fonction de la source de chaleur, les habitats pouvant héberger une forme de vie **thermophile** peuvent être d'origine naturelle ou artificielle. (Mehta et Satyanarayana, 2013; Cayol *et al.*, 2015).

#### II. 3. 1. Les habitats naturels

Les milieux naturels où se développent les microbes thermophiles sont répartis dans le monde entier (Deepika et Tulas, 2013). et se répartissent entre les sites volcaniques terrestres (y compris les solfatares), les sources hydrothermales terrestres, les systèmes hydrothermiques sous-marins (sédiments, volcans submersibles, fumerolles et passages) (Oshima et Moriya.,

2008), ainsi que les lieux souterrains (comme les réservoirs de pétrole) et les sols réchauffés par le soleil.(Gregoire, 2009).

- Les fumerolles et solfatares (Smets, 2022).
- Les sources hydrothermales profondes (Gregoire, 2009).
- Les sources chaudes terrestres et geysers (Brock, 2012).
- Pétrolière (Gregoire, 2009).
- Sols et sédiments chauffés par le soleil (Geiger et al., 1995; Torsvik et Øvreås, 2008; Mehta et Satyanarayana, 2013)

### II. 3. 2. Les habitats artificiels

Les biotopes thermophiles artificiels comprennent des environnements tels que le drainage minier acide, les liquides acides, les tas de compost auto-chauffants, les déchets biologiques et les usines de traitement des déchets, qui favorisent l'isolement de thermophiles modérés et extrêmes (Mayouf et al., 2020). Ces microorganismes se trouvent également dans des systèmes thermiques artificiels comme les circuits d'alimentation, les réservoirs d'eau chaude, les centrales nucléaires, les usines géothermiques, ainsi que dans les bioréacteurs (Gomri, 2012).

### II. 4. Diversité taxonomique et métabolique des thermophiles

Les organismes thermophiles ont une grande diversité métabolique et comprennent des organismes photosynthétiques, des organismes qui tirent leur énergie de réactions chimiques, des organismes qui produisent leur propre nourriture et des organismes qui dépendent d'autres organismes pour se nourrir. Les bactéries thermophiles présentent une grande variété de caractéristiques physiologiques et métaboliques, y compris des organismes photosynthétiques, des organismes chimiolithotrophes, des organismes autotrophes et des organismes hétérotrophes (Guezennec, 2004).

#### II. 4. 1. Les bactéries thermophiles autotrophes

L'autotrophie est un processus qui implique la fixation de carbone inorganique, comme le CO, CO<sub>2</sub> et les ions carbonates HCO<sub>2</sub>. L'absorption du CO<sub>2</sub> par les autotrophes est souvent associée au cycle de Calvin (Pillot, 2018). Toutefois, ce processus est rare chez les bactéries thermophiles et totalement absentes chez les archées. Ces organismes possèdent des alternatives pour assimiler le CO<sub>2</sub>, notamment la voie du CoA, le cycle d'acide citrique réducteur, le cycle du 3-hydroxypropionate et le cycle du 4-hydroxybutyrate (Holden, 2009).

## II. 4. 2. Les bactéries thermophiles hétérotrophes

La majorité des bactéries thermophiles isolées sont hétérotrophes, parmi lesquelles un groupe se distingue comme hyperthermophile : les Thermotogales, qui possèdent une gaine protectrice appelée "toge" (Kublanov *et al.*, 2007).

De nombreux isolats thermophiles sont des bactéries Gram-positives des ordres Bacillales et Clostridiales, qui génèrent des spores résistantes à la chaleur (Fardeau *et al.*, 2004). Ces bactéries jouent un rôle essentiel dans la décomposition de la matière organique dans des environnements à températures modérées (Urios *et al.*, 2004).

Les cheminées hydrothermales abritent des bactéries hétérotrophes alpha et gamma, telles que *Marinobacter*, *Vibrio*, *Pseudoalteromonas*, *Halomonas* et *Pseudomonas* (Zeng *et al.*, 2021)

## II. 4. 3. Les bactéries thermophiles phototrophes

On y trouve principalement des cyanobactéries qui réalisent des processus photosynthétiques basés sur l'oxygène (Ferris *et al.*, 1996) sont principalement représentées par *Synechococcus lividus*, qui forme un épais tapis microbiologique à des températures de 60 à 74 °C dans des environnements chauds.

D'autres photoautotrophes sans oxygène, tels que les bactéries productrices de soufre (*Proteobacteria*) et les vertébrés producteurs de soufre (*Chlorobi*), se trouvent également dans des sources de chaleur (Ferrera et Reysenbach, 2007).

## II. 4. 4. Les bactéries thermophiles chimiolithotrophes

Certaines bactéries ont la capacité de réparer le dioxyde de carbone grâce à l'énergie chimique, un processus appelé chimiolitho-autotrophie (Capdepuuy et Canellas, 1995). Les bactéries isolées lors d'événements hydrothermaux appartiennent principalement aux groupes *Epsilonproteobacteria*, *Thermales*, *Thermotogales* et *Aquificales* (Nakagawa *et al.*, 2005) Ces dernières utilisent l'oxygène et/ou les nitrates comme accepteurs d'électrons, et l'hydrogène, le soufre et le thiosulfate comme donneurs d'électrons (Ferrera et Reysenbach, 2007) .

## II. 5. Adaptations physiologiques à la thermophilie

La vie à haute température chez les thermophiles est facilitée par des mécanismes adaptatifs uniques. L'analyse des biomolécules dans ces bactéries a mis en évidence des différences structurales subtiles au niveau des protéines, des acides nucléiques et des lipides, spécifiques à leur environnement thermique (Alain *et al.*, 2010). Accompagnées de

changements au niveau membranaire et cytoplasmique visant à rendre stables toutes les activités cellulaires à températures élevées (Cayol *et al.*, 2015; Schulze-Makuch *et al.*, 2017 ; Mangrola *et al.*, 2022 ).

### II. 5. 1. Les protéines

Il n'existe pas de mécanisme universel expliquant la thermostabilité des protéines chez les microorganismes thermophiles, mais plutôt plusieurs facteurs intervenant à différents niveaux selon le microorganisme considéré (Sturner et Liebl, 2001).

Généralement, chaque protéine est le résultat d'une évolution propre qui optimise son repliement et les interactions externes avec les solvants (Jaenicke, 2000)

L'examen des structures cristallines des protéines orthologues à différents niveaux de température, hyperthermophiles, thermophiles et mésophiles, indique que parmi les modifications les plus fréquentes observées au sein des protéines thermophiles, on peut citer : (Holden, 2009).

- une augmentation des interactions de Van der Waals et des interactions ioniques.
- une hydrophobicité accrue.
- une extension du nombre et de la taille des réseaux de liaisons hydrogène.
- une densité de compaction plus élevée.
- une diminution de la longueur des boucles de surface.
- une oligomérisation des protéines (Holden, 2009 ; Quérellou et Guézennec, 2010).

De nombreux facteurs extrinsèques, tels que les protéines chaperonnes (thermosomes) et les osmolytes non protéiques, contribuent à la thermostabilité des protéines chez les archées hyperthermophiles. Les thermosomes sont thermostables et résistants à la protéolyse, tandis que les osmolytes protègent les protéines cytoplasmiques des effets thermiques (Santos *et al.*, 2011).

### II. 5. 2. Les lipides

L'augmentation de la température affecte la fluidité des membranes cellulaires, ce qui peut provoquer des dysfonctionnements. Pour y remédier, les cellules thermophiles adaptent leurs lipides en favorisant les acides gras saturés et oméga alicycliques (Mehta et Satyanarayana, 2013). Les archées ont des membranes en monocouches de diphytanoyl tétraéther et des couches S-layer, les rendant très résistantes à la chaleur (Madigan *et al.*, 2014).

Certaines bactéries hyperthermophiles possèdent également des étherlipides dans leurs membranes (Cayol *et al.*, 2015).

L'étude de la composition des lipides membranaires indique des différences d'adaptation à la thermophilie entre les archées et les bactéries (Postec, 2005). Les membranes des archées contiennent des lipides avec des liaisons éther, qui sont plus résistantes que les liaisons ester présentes dans les bactéries et les eucaryotes (Rawlings et Johnson, 2007). Les algues et certaines bactéries hyperthermophiles possèdent également ces lipides éthers. La structure membranaire monocouche lipidique des archées est plus rigide que les bicouches lipidiques des bactéries (Van de Vosenberg *et al.*, 1998).

### II. 5. 3. Acides nucléiques

Les procaryotes thermophiles utilisent deux mécanismes pour stabiliser leur ADN à haute température (Schulze-Makuch *et al.*, 2017). Le premier mécanisme est l'accumulation de solutés compatibles, qui aide à maintenir la conformation de l'ADN. Le deuxième mécanisme est la présence de protéines liant l'ADN, notamment les protéines de type histone chez les archées et la transcriptase inverse chez les organismes thermophiles (Mehta et Satyanarayana, 2013; Schulze-Makuch *et al.*, 2017). La transcriptase inverse enroule positivement l'ADN, ce qui améliore sa stabilité thermique (Forterre *et al.*, 1996). De plus, les organismes thermophiles ont des voies de réparation de l'ADN induites pour contrer la dénaturation induite par la chaleur et maintenir la stabilité génomique (Touaille et Sommer, 2011; Capece *et al.*, 2013). En ce qui concerne les ARNs de la petite sous-unité ribosomique, il a été observé que les espèces thermophiles ont un contenu en C+G plus élevé, ce qui pourrait avoir une importance fonctionnelle pour les ribosomes thermophiles (Madigan *et al.*, 2014).

### II. 5. 4. La membrane cytoplasmique

Les membranes cytoplasmiques des microorganismes thermophiles sont conçues pour rester stables et fonctionnelles à des températures élevées grâce à une composition lipidique spécifique (Ferrera et Reysenbach, 2007). Ces membranes régulent la perméabilité, contrôlant l'entrée et la sortie des petites molécules (Mehta *et al.*, 2016). Pour prévenir la dénaturation de la bicouche lipidique, ces organismes synthétisent des membranes riches en acides gras saturés à chaîne droite et pauvres en acides gras insaturés. Cette composition renforce la zone hydrophobe et augmente le point de fusion, assurant ainsi la stabilité de la membrane cellulaire (Vavitsas *et al.*, 2022).

## III. Applications des microorganismes thermophiles

La découverte des sources hydrothermales profondes, de manière générale l'étude de milieux extrêmes, plus spécialement les thermophiles, représentent une nouvelle frontière pour la biotechnologie industrielle, environnementale et pharmaceutique (**Charlesworth et Burns, 2016**). Les travaux de recherche sur ces organismes sont pour une grande part motivés par les applications biotechnologiques. Ils ont ouvert la voie à la mise en évidence de microorganismes bien adaptés à ces conditions atypiques et capables de synthétiser de molécules d'intérêt biotechnologique. On peut distinguer deux sortes d'applications. Le premier se base sur l'emploi direct des cellules de ces organismes, tandis que le second s'appuie sur l'utilisation de leurs biomolécules purifiées (**Quérellou et Guézennec, 2010 ; Rekadwad et Gonzalez, 2018**). Il s'agit des enzymes, mais également des protéines, des lipides, des polymères et d'une vaste variété de métabolites secondaires. (**Ibtissam et Mekki, 2019**).

### **III. 1. Utilisation directe des thermophiles**

#### **III. 1. 1. Les biocarburants**

Les microorganismes thermophiles jouent un rôle clé dans la production de biocarburants, notamment grâce à leur capacité à fonctionner efficacement à des températures élevées. Cette caractéristique présente plusieurs avantages industriels : réduction des risques de contamination, augmentation de la vitesse des réactions biochimiques, solubilité accrue des substrats, et meilleure fluidité des milieux de culture. Les procédés classiques de production de biobutanol et bioéthanol impliquent l'utilisation d'un procédé chimique combiné à l'utilisation de micro-organismes mésophiles tels que *Saccharomyces cerevisiae* et les espèces *Clostridium*. La production d'hydrogène repose généralement sur un procédé chimique/catalyseur, cependant, des systèmes à grande échelle basé sur des microorganismes utilisant les thermophiles *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* et *Thermoplasma volcanium* ont été récemment développés. Contrairement aux autres produits, le méthane est toujours produit à l'aide d'un consortium de micro-organismes, notamment les méthanogènes. Outre les biocarburants, les extrémophiles et leurs enzymes ont une autre application importante dans le domaine minier. Ce procédé appelé biolixiviation, consiste à éliminer les sulfures ou les oxydes métalliques insolubles en utilisant des micro-organismes. Il s'agit d'une méthode plus sûre et plus respectueuse de l'environnement pour extraire les métaux que la lixiviation en cas conventionnelle, qui nécessite l'utilisation de divers produits chimiques, y compris le cyanure, pour lier et séparer des minéraux/métaux spécifiques des autres (**Coker, 2016**).

#### **III. 1. 2. Agents de minéralisation**

Dans les traitements industriels de minéraux, des microorganismes oxydant le soufre et le fer sont employés pour libérer l'or inclus dans les minéraux sulfurés et dans la concentration des métaux lorsque les procédés chimiques conventionnels ne sont pas rentables. Parmi les archées réductrices de fer, *Pyrobaculum islandicum* et *Pyrobaculum furiosus*, ont la capacité de transformer le chlorure d'or en or insoluble (Lloyd *et al.*, 2003).

Alors que les acidothermophiles comme *Sulfolobus metallicus* et *Metallosphaera sedula* sont utilisées dans l'extraction du cuivre à partir de minéraux sulfurés ou encore dans le traitement de certains minerais sulfurés tels que la pyrite (Norris *et al.*, 2000). La manipulation et la réutilisation des pneus épuisés posent de sérieux problèmes et le recyclage des matériaux en caoutchouc est préférable d'un point de vue économique et environnemental. L'espèce *Pyrobaculum furiosus* est capable de désulfurer le caoutchouc en donnant un produit avec de bonnes propriétés mécaniques (Bredberg *et al.*, 2001).

En outre, les sols contaminés avec des alcanes linéaires et ramifiés (C20-C40), des hydrocarbures aromatiques (phénol, toluène, pyrène, phénanthrène, anthracène) insolubles à basses températures, peuvent être décontaminés avec les microorganismes thermophiles (Antranikian, 2009 ; Marchant et Banat, 2011).

### III. 1. 3. Les piles à combustible microbiennes

Les piles à combustible microbiennes thermophiles (Thermophilic Microbial Fuel Cells – T-MFC) représentent une évolution innovante des MFC traditionnelles, en intégrant des microorganismes capables de fonctionner à des températures élevées (souvent entre 50 °C et 70 °C). Ces systèmes exploitent la capacité des microorganismes thermophiles à oxyder la matière organique et à transférer les électrons libérés vers une électrode, générant ainsi de l'électricité tout en dégradant des substrats organiques complexes. (Quérellou et Guézennec, 2010). Une étude réalisée a démontré qu'une communauté microbienne thermophile isolée de sédiments marins était capable de produire un courant électrique dans une pile à combustible fonctionnant à 60°C en utilisant de l'acétate comme carburant (Mathis *et al.*, 2008).

### III. 2. Applications basées sur les biomolécules

#### III. 2. 1. Les enzymes thermostables

Les sources chaudes représentent une mine de microorganismes thermophiles bénéfiques, bactéries et archées, produisant de précieuses biomolécules et enzymes biotechnologiques. Elles sont utilisées dans l'industrie pour leur capacité à résister aux températures élevées et pour

leur thermostabilité (Saghatelyan et al., 2021). Les enzymes sont capables de catalyser des réactions biochimiques à des températures extrêmes (Oztas Gulmus et Gormez, 2020). Conduisant à des avancées importantes en biotechnologie, telles que le test de réaction en chaîne par polymérase (PCR).

### III. 2. 1. 1. Biologie moléculaire : Taq polymérase

L'enzyme thermostable la plus connue pour des applications biotechnologiques est la Taq ou l'ADN polymérase, produite à partir de *Thermus aquaticus* (Pandey et al., 2015). Elle a été isolée pour la première fois, du parc national de Yellowstone dans la Montana, aux Etats-Unis (Ishino et Ishino, 2014). L'ADN polymérase a permis le développement d'outils d'amplification et de séquençage qui a révolutionné presque tous les domaines de la biologie et de la médecine L'ADN polymérase thermostable est une enzyme essentielle pour la réaction en chaîne par polymérase (PCR) et le séquençage (Yamagami et al., 2016).

Le tableau 5 et 6 résument un peu quelques enzymes thermostables leurs origines, leurs températures optimales et leurs applications.

**Tableau 5.** Enzymes thermostables avec leur température optimale (Sharma et al., 2019)

Microorganismes	Enzyme produit	Température optimale
<i>Thermus thermophilus</i>	$\beta$ -galactosidase	85°C
<i>Bacillus licheniformis</i>	Cellulase	70°C
<i>Bacillus subtilis</i>	$\beta$ -Mannanase	60°C
<i>Rhizopus oryzae</i>	$\alpha$ -Amylase	-
<i>Mycothermus thermophilus</i>	Xylanases	65°C
<i>Geobacillus</i> sp	Cellulase	60°C
<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	Lipase	60°C
<i>Aeribacillus pallidus</i>	Protéase	60°C

**Tableau 6.** Enzymes thermostables et leurs applications (Nigam, 2013;; Ajeje et al., 2021; Mathew et al., 2021).

Microorganismes	Enzymes	Applications
<i>Bacillus</i> sp. <i>Geobacillus</i> sp.	Amylases	Les industries de la liquéfaction de l'amidon, du papier, de l'alimentation, du sucre et l'industrie pharmaceutique.
<i>Bacillus</i> , <i>Geobacillus</i> , <i>Caldibacillus</i> , <i>Acidothermus</i> , <i>CaldocellumetClostridium</i>	Cellulases	Production de biocarburants, industrie papetière et les industries alimentaires.
<i>Thermoactinomyces halophilus</i> , <i>Bacillus</i> sp, <i>Humicola</i> spp.	Xylanases	La clarification des jus de fruits, l'amélioration de la digestion du rumen et la bioconversion des résidus agricoles lignocellulosiques en carburants et produits chimiques, industries alimentaires, de la pâte à papier, du papier et du textile, l'utilisation des résidus agro-industriels et la production d'éthanol et d'aliments pour animaux.
<i>Thermusthermophilus</i>	Laccases	La bioremédiation, le contrôle de la pollution et dans le traitement des effluents industriels contenant des produits chimiques dangereux tels que les colorants textiles, les phénols et autres xénobiotiques.
<i>Clostridiumthermocellum</i>	<b>Chitinases</b>	Traitement des eaux usées, le traitement des textiles et le développement de produits photographiques, dematériaux .

**Partie 11**

---

**Matériel et Méthodes**

Notre étude appliquée a été menée au sein du complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie d'El Hamma (Photo 1), durant la période d'Avril à Mai 2025 dirigé par Mme Chorfi R, et du laboratoire de recherche : Biotechnologie, Eau, Environnement et Santé, dirigé par Pr Kadi Kenza.

### 1. Objectif du travail

Ce travail consiste en l'étude physico-chimique et microbiologique de l'eau thermale, ainsi qu'en la mise en évidence des caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques des bactéries thermophiles, accompagnée du criblage de leurs activités enzymatiques.



**Photographie 1.** Complexe des laboratoires pédagogiques de la Faculté des sciences de la nature et de vie à El Hamma (Khenchela).

### 2. Description du site d'échantillonnage

Pour la réalisation de notre étude, nous avons choisi un site situé dans la wilaya de Khenchela. La wilaya de Khenchela compte 40 sources, et notre recherche a été menée au niveau de la source thermale de « Hammam Tamersit ».

La source de Tamersit est située dans la commune d'El Ouldja, au sud-ouest de la wilaya de Khenchela, dans les Aurès, à l'est de l'Algérie. La commune s'étend sur une superficie de 366 km<sup>2</sup>. Elle est délimitée au nord par El M'Sara, à l'est par Kheirane, au sud par la wilaya de Biskra et à l'ouest par la wilaya de Batna.

Dans une zone boisée, caractérisée par une diversité climatique et un relief favorable, plantée d'oliviers palma, sur les rives de l'oued El Arab (Photo 2), la première source (Tamersit) est située sur la droite par rapport au sens d'écoulement de l'oued.

Nous avons observé le débit d'une autre source sur la rive gauche, à 19 mètres de la première. Cette dernière se divise en deux sources : l'une appelée Tamersit 1, et l'autre Tamersit 2, située à 1,19 kilomètre de la première source (**Guilal et al., 2022**).



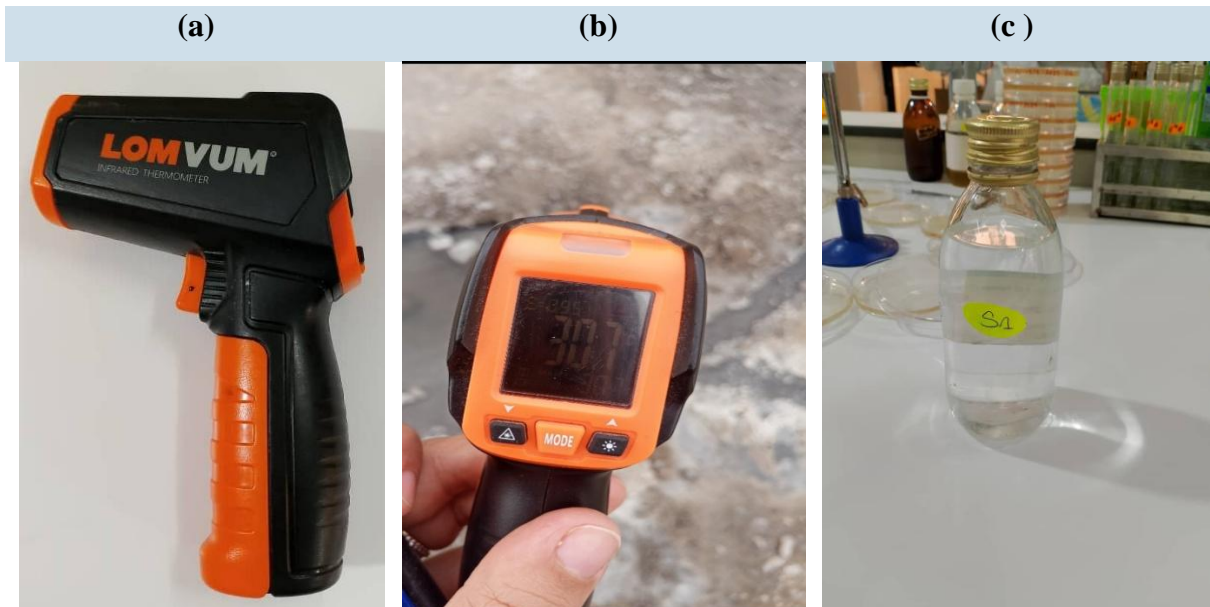
**Photographie 2.** Zone de prélèvement « Hammam Tamersit »

### 3. Echantillonnage

#### 3. 1. Préparation du matériel

Les échantillons d'eau ont été prélevés au cours du mois d'avril 2025 (Photo 3 (c)), à partir d'une seule source thermale : celle de Hammam Tamersit. Avant le prélèvement, une étape de rinçage a été effectuée, consistant à rincer les flacons de prélèvement avec l'eau de la source afin d'éviter toute contamination croisée.

Le prélèvement a été réalisé manuellement, en plongeant directement les flacons en verre stériles à une profondeur de 15 cm sous la surface de l'eau. Des mesures in situ de la température ont été effectuées à l'aide d'un thermomètre infrarouge portable de type LOMVUM (Photo 3 (a) et (b)). Les échantillons ont ensuite été transportés dans une glacière à 4 °C jusqu'au laboratoire d'analyse.



**Photographie 3.** Photographies des échantillons et du thermomètre utilisé (a) et (b) : thermomètre infrarouge portable de type LOMVUM. (c) : l'échantillon de l'eau prélevé

## 4. Analyse physico-chimique

### 4. 1. Appréciation de la qualité organoleptique

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

#### 4. 1. 2. Paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques analysés étaient la température (T), le potentiel d'hydrogène (pH), la turbidité, l'oxygène dissous (OD), la conductivité et les résidus secs. Un échantillon d'eau de 1 litre a été analysé au niveau de laboratoire de Recherche en Hydraulique Souterraine et de Surface LARHYSS, Université de Biskra - Algérie. Dirigé par Dr GUERGAZI Saadia. (Les protocoles sont détaillés en annexe 04).

## 5. Isolement, purification et conservation des isolats

L'isolement a été réalisé par étalement de 0,1 mL d'eau thermale ou de ses dilutions ( $10^{-1}$  à  $10^{-4}$ ) sur quatre milieux de culture différents (M1, M2, M3 et GN) (Annexe 01),

préparés au laboratoire. Ces milieux, peu sélectifs, sont conçus pour favoriser la croissance du plus grand nombre possible de bactéries thermophiles. L'incubation a été effectuée à 45 °C pendant 48 heures à 72 heures, des conditions couramment utilisées pour l'étude des bactéries thermophiles (Goodfellow et Jones, 2009 ; Logan et al., 2009). À partir de chaque milieu, quelques colonies présentant des aspects morphologiques différents ont été prélevées et purifiées par repiquages successifs sur les mêmes milieux solides. Les souches pures obtenues ont été conservées à 4 °C.

## **6. Identification des isolats**

### **6. 1. Caractérisation morphologique et culturale**

#### **6. 1. 1. Caractérisation macroscopique**

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé de la durée et de la température de l'incubation. Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées. Les éléments d'identification macroscopiques sont : La forme des colonies, La taille des colonies par la mesure du diamètre, Couleur de la colonie. La surface : lisse, rugueuse, sèche, dentelée. (Thomas et al., 1970).

#### **6. 1. 2. Caractérisation microscopique**

Pour chaque isolat, une coloration de Gram a été réalisée (Annexe 02). L'observation microscopique a été effectuée à l'aide d'un microscope optique, à un grossissement de  $\times 100$  à l'huile à immersion. Cette technique permet de classer la majorité des bactéries en deux catégories, selon la teneur en peptidoglycane de leur paroi cellulaire :

- les bactéries à Gram positif (+), riches en peptidoglycane et pauvres en lipides.
- les bactéries à Gram négatif (-), dont la paroi contient moins de peptidoglycane mais une proportion plus élevée de lipides.

### **6. 2. Caractérisation physiologique**

#### **6. 2. 1. Influence de la température**

L'influence de la température sur la croissance a été évaluée en incubant les cultures des isolats sur milieux solides à différentes températures (4, 25, 37 et 45 °C) pendant 48 heures.

#### **6. 2. 2. Influence de la salinité**

La tolérance au NaCl a été étudiée en faisant varier sa concentration finale de 0,1 % à 1,5 % (p/v), en testant spécifiquement les concentrations de 0,1 %, 0,8 % et 1,5 % pour nos isolats, Le développement est vérifié après incubation à 45 °C pendant 48 heures.

### 6. 2. 3. Influence du pH

L'influence du pH sur la croissance des isolats a été déterminée en faisant varier le pH de 3,4 à 9, en testant spécifiquement les valeurs de 3,4, 5,4 et 9 pour nos isolats après incubation à 45 °C pendant 48 heures.

### 6. 3. Mise en évidence du métabolisme protéique

Les isolats ont été soumis à une recherche qualitative d'hydrolases extracellulaires à 45 °C. Pour ce faire, le milieu solide d'isolement a été modifié en réduisant la source organique (milieu de base) et en y ajoutant le polymère-test correspondant à chaque enzyme à détecter, selon la méthode décrite par **Demirjian et al.(1999)** quatre substrats ont ainsi été utilisés : l'amidon, la gélatine, la caséine et le Tween 80, permettant la mise en évidence des activités enzymatiques des isolats. La composition détaillée des milieux modifiés est présentée en (Annexe 03).

#### 6. 3. 1. Amylase

L'activité amylolytique a été déterminée par ensemencement des isolats sur une gélose contenant de l'amidon (1% (p/v) d'amidon soluble). L'incubation a été effectuée pendant 1 à 3 jours. Pour révéler les résultats, une solution de Lugol a été ajoutée sur les boîtes ; l'apparition de zones claires autour des colonies indique la production d'amylases (**Gordon et al., 1973**).

#### 6. 3. 2. Protéases

##### 6. 3. 2. 1. Hydrolyse de la caséine

Ce test consiste à ensemencer les isolats bactériens en traçant une seule strie à la surface d'un milieu gélosé contenant 1 % (p/v) de caseine. Après &

2

##### 6. 3. 2. 2. Hydrolyse de la gélatine

Le test d'hydrolyse de la gélatine a été réalisé selon la méthode de Frazier, en utilisant une gélose contenant 1 % (p/v) de gélatine. Après incubation, la dégradation de la gélatine se manifeste par l'apparition d'une zone claire autour des colonies, dans une gélose légèrement opaque (**Frazier, 1926**).

##### 6. 3. 3. Activités lipolytiques (hydrolyse des Tween 20 et 80)

L'estérase est recherchée par le test d'hydrolyse des Tween 20 et 80. Ces deux produits stériles sont rajoutés à une concentration de 1% (v/v) au milieu de base stérile en surfusion. Les boîtes de Pétriensemencées sont incubées pendant 1 à 3 jours. Une lecture positive est traduite par l'apparition de zones claires autour des colonies productrices de lipases (**Gonzalez et al., 1978**).

#### 6. 4. Caractérisation biochimique

##### 6. 4. 1. Test de catalase

La catalase est une enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) produit par la souche étudiée (**Joffin et Leyral, 2006**). Selon la réaction suivante :  $2H_2O_2=2H_2O+O_2$ . L'oxygène libéré est dégagé sous forme gazeuse (**Marchal et al., 1987**). Sa recherche consiste à mettre en contact une colonie de l'isolat en présence d'eau oxygénée à 10 volumes. Une effervescence due à un dégagement gazeux traduit la présence de cette enzyme : catalase (+) / Pas de bulles : catalase (-). (**Joffin et Leyral, 2006**).

##### 6. 4. 2. Test de Cytochrome oxydase

Le cytochrome oxydase est une enzyme qui joue un rôle important à la fin de la chaîne respiratoire, en catalysant la combinaison des électrons et de l'hydrogène avec l'oxygène. Sa présence peut être démontrée à l'aide de disques « Ox » imprégnés d'oxalate de N-N diméthylparaphénylène. En cas de réaction positive, une couleur bleu violacé apparaît en quelques minutes (**Joffin et Leyral, 2006**).

##### 6. 4. 3. Recherche de L'ONPG-hydrolase Principe

Cette recherche constitue une méthode complémentaire pour étudier la dégradation du lactose, couramment appelée test de la  $\beta$ -galactosidase (**Marchal, 1987**). Pour ce faire, une suspension dense de l'échantillon est préparée dans 0,5 mL d'eau physiologique. À l'aide d'une pince stérile un disque d'ONPG est déposé dans la suspension, qui est ensuite incubée dans un bain-marie à 37 °C. L'observation des résultats s'effectue après 15 à 30 minutes. Il est fortement déconseillé de prolonger l'incubation au-delà de 24 heures, car la majorité des réactions positives se manifestent dans les 30 premières minutes (**Marchal et al., 1987**). Le test est considéré comme positif si une coloration jaune apparaît dans la suspension ; en l'absence de coloration, le test est négatif.

## Partie III

---

# Résultats et Discussion

## I. Résultats de l'analyse physicochimique des échantillons d'eau

### I. 1. Paramètres organiques

D'après les résultats présentés dans le tableau 7, la couleur observée est due à la présence de matières organiques dissoutes ou colloïdales. L'odeur d'œuf pourri, caractéristique de l'eau de Hammam Tamersit, témoigne de la présence d'hydrogène sulfuré ( $H_2 S$ ) d'origine interne. L'eau présente également un goût salin en raison de la présence de sels.

**Tableau 7.** Caractéristiques organoleptiques de l'eau de la source thermale de Hammam Tamersit

Paramètre organique	Resultats
Coloration	Jaunâtre
Odeur	Oeuf pourri
Gout (saveur)	Salin

### I. 2. Paramètres électrochimiques

Le tableau 8 présente les principales caractéristiques physico-chimiques de l'eau de la source thermale de Hammam Tamersit, comparées aux plages de valeurs généralement observées dans les eaux thermales. Ces paramètres permettent d'évaluer la nature de l'eau (thermominérale), son potentiel thérapeutique, ainsi que sa conformité aux standards thermaux.

**Tableau 8.** Paramètres physico-chimiques de la source thermale de Hammam Tamersit comparés aux valeurs typiques des eaux thermales

Paramètre	Valeurs	Valeurs typiques en eaux thermales
T°C	25	>20°C (critère d'eau thermal)
pH	7.35	6.5-8.5
Conductivité à 25°C ( $\mu S/Cm$ )	2418	1000-3000
Salinité %	1.2	0.1-2%
TDS	1206	500-2000

Les eaux thermales présentent des caractéristiques physico-chimiques variables selon leur parcours géologique. Leurs vertus thérapeutiques proviennent principalement de leur richesse en sels minéraux, en boues et en gaz (**Bouanane-Darenfed, 2012**).

Un échantillon d'eau a été prélevé le 13 avril 2025 à 9h40, à partir de la source thermale principale de Hammam Tamersit. Trois mesures successives de la température ont été réalisées à l'aide d'un thermomètre infrarouge numérique (LOMVUM Digital Infrared Thermometer). Les résultats ont montré que la température de la source oscille entre 29 et 30 °C, Ce qui confirme son appartenance à la catégorie des eaux thermales tièdes, selon la définition

européenne, une eau est thermale si sa température à la source est supérieure à celle du sol local, souvent  $>20^{\circ}\text{C}$  (**Directive 2009/54/CE**). La température d'une source dépend à la fois de la profondeur et de la vitesse de remontée de l'eau, reflétant la profondeur de pénétration et la rapidité de son ascension (**El Grasby et al., 2001**). Les températures plus basses s'expliquent par le refroidissement dû au mélange entre eaux thermales profondes et eaux météoriques, ou par une recharge météorique accrue ou une conduction thermique plus intense dans des réservoirs peu profonds (**Chenaker et al., 2017**).

Ainsi, la température de  $30^{\circ}\text{C}$  mesurée à Hammam Tamersit est relativement modérée comparée à d'autres sources thermales algériennes bien connues :

Hammam Debbagh :  $94,3^{\circ}\text{C}$  (**Cissé et Moussa, 2023**)

Hammam Ouled Ali :  $57^{\circ}\text{C}$  (**Yakhlef et Darbouche, 2012**)

Hammam Melouane :  $39,5^{\circ}\text{C}$  (**Bouacem, 2016**)

Le pH des eaux thermales se situe généralement entre 6 et 9 (**Chapman et Kimstach, 1996**). Un pH proche de 7,35 est considéré comme optimal pour la plupart des usages thérapeutiques, car il est bien toléré par la peau humaine.

Dans les eaux naturelles, le pH varie habituellement entre 6 et 8,5. Il tend à diminuer en présence de concentrations élevées de matière organique, tandis qu'il augmente durant les périodes d'étiage, lorsque l'évaporation est plus marquée (**Meybeck et al., 1996**).

Le pH mesuré dans la source thermale étudiée (7.35) est proche de la neutralité, comparable à celui de Hammam Guergour (pH = 7,4), rapporté par **Aissat et Mekki (2019)**. En revanche, il est supérieur à celui de Hammam Debbagh, dont le pH est plus acide (pH = 6,6) selon **Cissé et Moussa (2023)**.

La conductivité électrique constitue un indicateur clé de la minéralisation d'une eau. La source thermale de Hammam Tamersit présente une conductivité de  $2418\ \mu\text{S}/\text{cm}$ , ce qui la place dans la moyenne des eaux thermales. Cette valeur traduit une minéralisation modérée, bien adaptée à une variété de traitements thermaux.

En comparaison, certaines sources présentent des niveaux de minéralisation beaucoup plus contrastés. Par exemple, la station thermale de Moulay Yaâcoub au Maroc affiche une conductivité très élevée, comprise entre  $46\ 000$  et  $47\ 800\ \mu\text{S}/\text{cm}$  (**Budju et al., 2023**), tandis que les sources thermales de Kaswa/Mahagi en République Démocratique du Congo présentent une conductivité plus faible, variant entre  $932$  et  $1230\ \mu\text{S}/\text{cm}$  (**Houti et al., 2015**). Les eaux

minérales naturelles ont généralement une conductivité comprise entre 500 et 3000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (OMS, 2017).

Ainsi, la source de Hammam Tamersit se distingue par une composition minérale équilibrée, ni trop pauvre ni excessivement riche en sels dissous, ce qui lui confère une grande polyvalence pour différents usages thérapeutiques.

Les sources thermales en Algérie affichent une grande diversité en termes de minéralisation. Les études hydrogéochimiques montrent que la teneur en solides dissous totaux (TDS) varie de valeurs faibles à très élevées, en fonction de la géologie locale et des processus de dissolution des roches.

La source de Hammam Tamersit présente une concentration en TDS de 1206 mg/L, ce qui correspond à une eau minérale modérément minéralisée, adaptée à un usage thérapeutique selon l'OMS (2017). Cette minéralisation reste faible comparée à celle d'autres sources algériennes, comme celle de Hammam Salhine dans la région de Khenchela, dont la TDS atteint environ 9000 mg/L (Boughrara, 2008).

La salinité naturelle des eaux thermales varie généralement entre 0,1 % et 2 % (Boulé, 2012). Avec une salinité d'environ 1,2 %, l'eau de notre source est considérée comme salée, une caractéristique pouvant présenter des effets bénéfiques en balnéothérapie.

L'eau thermale de Hammam Tamersit affiche une salinité naturelle proche de 1,2 %, principalement attribuable à la circulation profonde des eaux au sein de formations cristallophylliennes (Chorfi, 2019).

Cette valeur est comparable à celle de plusieurs autres sources thermales algériennes et nord-africaines modérément salées, telles que la source de Roumia, avec une salinité d'environ 0,05 % (Benzerga et Bousri, 2023), et les sources de Zelfana, dont la salinité atteint environ 1 % (Ouali et al., 2007).

### I. 3. Paramètres volumétriques

Le tableau 9 présente les concentrations des principaux ions mesurés dans l'eau thermale de Hammam Tamersit, ainsi que leurs valeurs typiques observées dans les eaux thermales. Cette comparaison permet d'évaluer la composition minérale de la source et son adéquation aux usages thérapeutiques.

**Tableau 9.** Concentrations des principaux ions dans l'eau thermale de Hammam Tamersit comparées aux valeurs typiques des eaux thermales

Paramètres	Unités	Valeurs	Valeurs typiques en eaux thermales
<b>Chlorures</b>	Mg/l	232	Jusqu'à 300 pour les eaux chlorurées
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Mg/l	240	100-400
<b>Calcium (Ca<sup>2+</sup>)</b>	Mg/l	60	20-100
<b>Magnésium (Mg<sup>2+</sup>)</b>	Mg/l	41	10-50
<b>Fluor (F<sup>-</sup>)</b>	Mg/l	1.5	≤1.5 selon OMS

Les concentrations ioniques mesurées dans l'eau thermale de Hammam Tamersit montrent une composition minérale équilibrée, conforme aux plages typiques des eaux thermales

Les chlorures (232 mg/L) se situent légèrement en dessous du seuil habituel des eaux chlorurées (jusqu'à 300 mg/L), indiquant une présence modérée de sels chlorés, souvent associée à des propriétés antiseptiques et relaxantes en balnéothérapie.

Les résultats analytiques de notre source montrent que sa concentration en chlorures (232 mg/L) est nettement plus élevée que celle de la source de Belhachani (31,2 mg/L) et que les chlorures sont absents dans l'eau de la source d'Ouled Ali. Cependant, cette concentration reste inférieure à celle relevée à Hammam Debagh, où les chlorures atteignent 370 mg/L (**Yakhlef et Darbouche, 2012**).

Les bicarbonates, présents à une concentration de 240 mg/L dans l'eau thermale de Hammam Tamersit, se situent dans l'intervalle typique des eaux thermales (100 à 400 mg/L). Ces ions jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre acido-basique de l'eau, ce qui contribue à ses effets apaisants sur la peau et les muqueuses.

En comparaison, cette teneur est inférieure à celle mesurée à la source d'Ouled Ali (397 mg/L), mais supérieure à celle de Hammam Debagh (183 mg/L). (**Yakhlef et Darbouche, 2012**).

Les ions calcium (60 mg/L) et magnésium (41 mg/L) sont présents en quantités modérées, typiques des eaux thermales. Le calcium favorise la régénération osseuse et muscul. En ce qui concerne les cations, la concentration en calcium (Ca<sup>2+</sup>) dans l'eau de Hammam Tamersit est de 60 mg/L. Cette valeur est inférieure à celles relevées à Ouled Ali (224 mg/L) et à Hammam Debagh (130 mg/L), mais reste proche de celle mesurée à Belhachani (70,2 mg/L). Pour le magnésium (Mg<sup>2+</sup>), la teneur à Tamersit atteint 41 mg/L, ce qui est légèrement

supérieur à Belhachani (33,5 mg/L) et comparable à Debagh (37,4 mg/L). En revanche, elle est nettement plus élevée que celle de Ouled Ali, où elle n'atteint que 19 mg/L. Enfin, la concentration en fluorures ( $F^-$ ) à Hammam Tamersit est de 1,5 mg/L, ce qui correspond à la limite maximale recommandée par l'OMS pour les eaux destinées à la consommation humaine, tout en conservant un effet thérapeutique potentiel. Dans l'ensemble, l'eau de Hammam Tamersit présente une composition minérale intermédiaire, marquant une minéralisation modérée, en contraste avec les eaux fortement minéralisées de Debagh et les eaux plus faiblement minéralisées de Belhachani.

#### I. 4. Paramètres spectrophotométrie

Le tableau 10 présente les concentrations de certains éléments traces et ions majeurs mesurés dans l'eau thermale de Hammam Tamersit, comparées aux seuils recommandés ou typiquement observés dans les eaux thermales selon les normes de l'OMS ou les valeurs de référence

**Tableau 10.** Évaluation des éléments traces et ions majeurs dans l'eau thermale de Hammam Tamersit

Paramètres	Unités	Valeurs	Valeurs typiques en eaux thermales
Nitrite ( $NO_2^-$ )	Mg/l	0.06	<50 (norme OMS)
Nitrate ( $NO_3^-$ )	Mg/l	38.10	<0.1
Fe Total	Mg/l	0.04	<0.3
Ion Ammonium ( $NH_4^+$ )	Mg/l	0.22	<0.5
Phosphate ( $PO_4^{3-}$ )	Mg/l	0.20	≤0.5
Sulfate ( $SO_4^{2-}$ )	Mg/l	60	<250
Sodium ( $Na^+$ )	Mg/l	26.30	<200
Potassium ( $K^+$ )	Mg/l	2.0	<10

$NH_2 Cl = 0.06 \text{ mg/l}$  /  $H_2 S = 44 \text{ mg/l}$

Les analyses révèlent que l'eau thermale de Hammam Tamersit respecte globalement les normes de qualité fixées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et les valeurs typiques observées dans les eaux thermales.

- ✓ **Nitrites ( $NO_2^-$ )** : Avec une concentration de 0,06 mg/L, bien en dessous de la limite de 50 mg/L fixée par l'OMS, la présence de nitrites est très faible, ce qui traduit une eau peu exposée à une pollution récente d'origine organique ou industrielle.
- ✓ **Nitrates ( $NO_3^-$ )** : La concentration en nitrates dans l'eau thermale de Hammam Tamersit atteint 38,10 mg/L. Bien qu'elle reste en dessous de la limite maximale autorisée par l'OMS

pour l'eau potable (50 mg/L), cette valeur demeure relativement élevée comparée à celle observée dans d'autres sources thermales, où les teneurs sont souvent très faibles, comme c'est le cas à Hammam Debagh (**Yakhlef et Darbouche, 2012**). Une telle concentration peut être le signe d'une infiltration d'origine agricole (engrais azotés) ou d'un apport en eaux météoriques, notamment en période de recharge hydrique.

- ✓ **Fer total (Fe)** : À 0,04 mg/L, le fer reste très en deçà du seuil critique de 0,3 mg/L. Une faible teneur en fer est favorable pour les usages thérapeutiques, car elle évite la coloration, l'odeur métallique et l'oxydation dans les installations.
- ✓ **Ion ammonium ( $\text{NH}_4^+$ )** : Sa concentration de 0,22 mg/L reste inférieure à la limite fixée (0,5 mg/L), indiquant une absence significative de contamination organique récente.
- ✓ **Phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )** : Avec une valeur de 0,20 mg/L, les phosphates sont présents en faible quantité, ce qui suggère une absence de pollution domestique ou agricole notable. Une concentration excessive pourrait indiquer un rejet de détergents ou d'eaux usées.
- ✓ **Sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ )** : La concentration en sulfates dans l'eau thermale de Hammam Tamersit est de 60 mg/L, une valeur bien inférieure à la limite de 250 mg/L recommandée, mais supérieure à celle observée à Hammam Ouled Ali (entre 24 et 41 mg/L) (**Yakhlef et Darbouche, 2012**). Cette teneur modérée suggère une origine géologique marquée, probablement liée à la dissolution de roches sédimentaires contenant des minéraux soufrés (Hem, 1985). À ce niveau, les sulfates peuvent contribuer positivement aux propriétés purgatives et dermatologiques de l'eau thermale.
- ✓ **Sodium ( $\text{Na}^+$ ) et Potassium ( $\text{K}^+$ )** : Les teneurs mesurées en sodium (26,30 mg/L) et en potassium (2,0 mg/L) restent largement en dessous des seuils admis pour les eaux thermales (respectivement 200 mg/L pour le sodium et 10 mg/L pour le potassium). Ces concentrations modérées sont caractéristiques des eaux thermales alcalines, connues pour leurs effets bénéfiques sur la peau et leur action apaisante sur les affections dermatologiques (**Zouggar et al., 2013**). À ces niveaux, sodium et potassium contribuent positivement à la minéralisation globale de l'eau, sans présenter de risques pour la santé ou de contre-indications majeures.

L'eau thermale de Hammam Tamersit présente une composition chimique globalement saine, sans signes de pollution significative. Les concentrations mesurées sont compatibles avec une utilisation en balnéothérapie et en soins dermatologiques, renforçant l'intérêt thérapeutique de cette source. (**Féray, 2002**).

## II. Isolement et identification des bactéries

### II.1. Isolement et purification des bactéries

Nous avons choisi la source thermale de Hammam Tamersit, située dans la wilaya de Khenchela, car aucune étude n'a été réalisée jusqu'à présent sur la microbiologie de ses eaux. Cela confère à notre travail un caractère original, notamment en ce qui concerne le site d'échantillonnage. À partir de l'eau thermale de cette source, et à l'aide de quatre milieux d'isolement différents, une dizaine de colonies présentant des aspects morphologiques variés ont été prélevées puis purifiées par repiquages successifs sur les mêmes milieux solides. Ce processus a permis de sélectionner dix isolats, codés selon une nomenclature alphanumérique : E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10 et E12. L'identification se basait sur les méthodes classiques telles que la forme, la taille, l'aspect des colonies, la coloration de Gram ainsi que des tests physiologiques et biochimiques.

## II. 2. Caractérisation Morphologique

### II. 2. 1. Aspects macroscopique et microscopique des souches étudiées

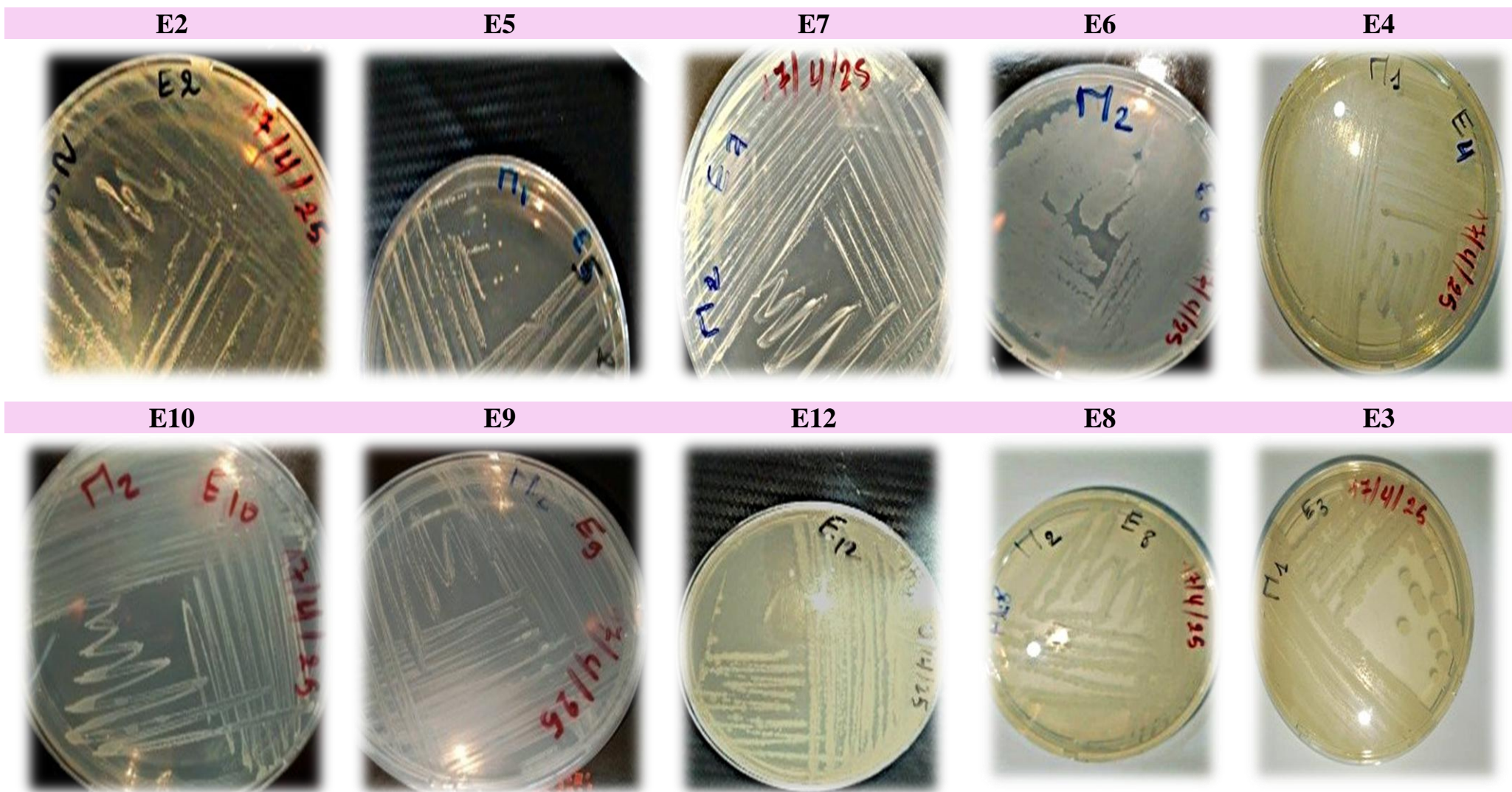
Après une incubation à 45°C, pendant 24 à 48 h, on observe des colonies d'aspects différents ; plate, rugueuse, lisse ou bombée ; de forme irrégulière ou rond ; et de couleur beige, blanche ou jaune, (Photo 4, Tab 11).

L'examen microscopique des dix isolats bactériens issus de la source thermale de Hammam Tamersit a révélé une diversité notable, tant au niveau de la coloration de Gram que de la morphologie cellulaire (Photo 5, Tab 11). Sur le plan de la coloration de Gram, sept isolats se sont révélés Gram positifs (isolats E2, E3, E5, E6, E8, E9, E12), tandis que les trois autres étaient Gram négatifs (isolats E4, E7 et E10), traduisant une répartition équilibrée entre les deux types de paroi cellulaire.

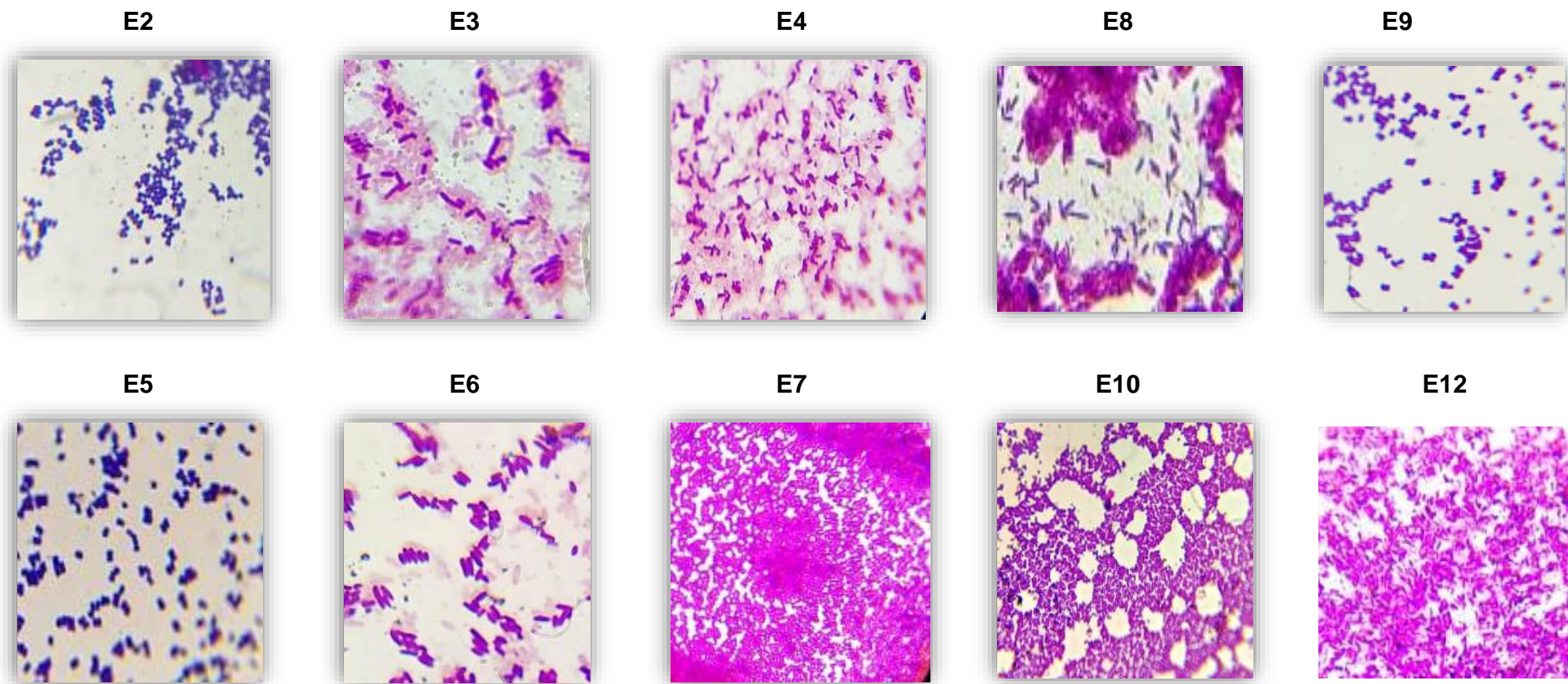
Du point de vue morphologique, la majorité des isolats présentaient soit une forme cocci (isolats E2, E5, E7, E9, E10), soit une forme bacillaire (isolats E3, E6, E8, E12). Un isolat (E4) a présenté une morphologie intermédiaire de type coco-bacillaire.

Cette diversité morphologique et structurale est caractéristique des milieux thermaux, connus pour leurs conditions extrêmes (température, minéralisation élevée), et témoigne d'une bonne adaptation des souches isolées à cet environnement spécifique. La plupart des bactéries isolées des sources thermales en Algérie surtout, étaient des bacilles Gram positif. Une étude similaire a été réalisée par **Larbi (2015)**, qui a isolé 59 souches bactériennes de différentes sources thermales (Hammam Debagh à Galma, Hammam bouhnifia à Mascar, Hammam Bouhjar à Temouchent, Hammam Rabi à Saida, Hammam Righa à Ain Defla), dont 44 isolats étaient des bacilles Gram positif, mais aussi, elle a trouvé aussi des bacilles Gram négatif et des Cocci Gram positif. Ces résultats rejoignent ceux rapportés par **Aissat et Mekki (2019)** à Hammam Guergour (Sétif), où les genres *Bacillus* et *Pseudomonas* dominaient, tout comme ceux de

**Benalia et al. (2020)** à Hammam Debagh (Guelma), où des souches thermotolérantes telles que *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolées.



Photographie 4. Aspect macroscopique des souches étudiées



**Photographie 5.** Observation microscopique des souches étudiées, réalisée au microscope photonique avec un grossissement de  $\times 100$ .

**Tableau 11.** Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des isolats bactériens issus de la source thermale de Hammam Tamersit

Isolat	Type de colonie				Gram	Forme
	Couleur	Aspect	Forme	Consistance		
E2	Blanchâtre	plate	Irrégulière	Crémeuse	Positif (+)	Cocci
E3	Crème	Lisse	Ronde régulière	Crémeuse	Positif (+)	Bacille
E4	Beige	plate	Irrégulière	Crémeuse	Négatif (-)	Coco-bacille
E5	Blanchâtre	Lisse bombée	Ronde	Crémeuse	Positif (+)	Cocci
E6	Crème	Plate rugueuse	Dentelée	Crémeuse	Positif (+)	Bacille
E7	Blanchâtre	Plate lisse	Ronde	Crémeuse	Négatif (-)	Cocci
E8	Beige	Plate rugueuse	Irrégulière	Crémeuse	Positif (+)	Bacille
E9	Beige	Plate lisse	Ronde	Crémeuse	Positif (+)	Cocci
E10	Crème	Lisse bombée	Irrégulière	Crémeuse	Négatif (-)	Cocci
E12	Beige	plate	Irrégulière	Crémeuse	Positif (+)	Bacille

## II. 3. Caractérisation biochimique

### II. 3. 1. Recherches des enzymes respiratoires

Les résultats de la recherche des enzymes respiratoires chez les souches étudiées sont présentés dans le Tableau 12. Cette analyse inclut les tests de catalase, oxydase et ONPG, permettant de caractériser le métabolisme respiratoire et fermentaire des isolats.

#### II. 3. 1. 1. Test de la Catalase

Tous les isolats se sont révélés catalase positifs (+). Cela indique leur capacité à décomposer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau ( $H_2O$ ) et oxygène ( $O_2$ ), réaction visualisée par l'apparition de bulles d'air. (Photo 6 a, Tab 12)

#### II. 3. 1. 2. Test Oxydase

Seuls quatre isolats sur dix se sont révélés oxydase positifs (+). Le test est mis en évidence par un changement de couleur vers le mauve, indiquant la présence de cytochrome c oxydase.

Ces isolats sont probablement des aérobies stricts ou possèdent un métabolisme respiratoire oxydatif. (Photo 6 b, Tab 12).

### II. 3. 1. 3. Test ONPG

Tous les isolats ont donné un résultat ONPG négatif (-), traduisant l'absence d'activité  $\beta$ -galactosidase. Ils sont donc incapables de fermenter le lactose, ce qui est confirmé par l'absence de coloration jaune dans le milieu réactionnel. (Photo 6 c, Tab 12)

**Tableau 12.** Caractérisation biochimique des isolats

Isolat	Catalase	Oxydase	ONPG
E2	+	+	-
E3	+	+	-
E4	+	-	-
E5	+	-	-
E6	+	-	-
E7	+	+	-
E8	+	-	-
E9	+	-	-
E10	+	-	-
E12	+	+	-

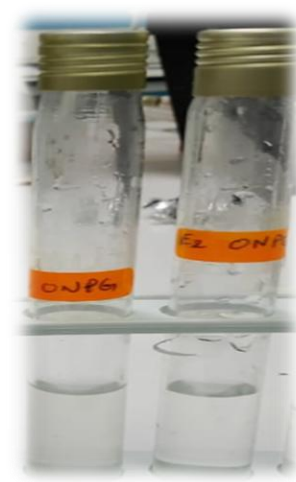
Oxydase : pas de changement de couleur (-) / Couleur mauve (+)  
 ONPG : couleur jaune (+) / pas de changement de couleur (-)  
 Catalase : Aucune formation de bulles (-) / l'apparition des bulles d'air(+)



(a)



(b)



(c)

**Photographie 6.** Caractérisation biochimique des isolats. (a):Test catalase, (b):Test oxydase

(c): Test ONPG

## II. 4. Mise en évidence d'activités hydrolytiques extracellulaires des souches obtenues

L'étude enzymatique des isolats bactériens issus de la source thermale de Hammam Tamersit (wilaya de Khenchela) a révélé une importante diversité métabolique, caractérisée par des activités hydrolytiques variées (Tab 13, Photo 7)

Les tests enzymatiques ont montré que trois isolats (E2, E4 et E12) présentaient une activité amylasique positive, dont deux avec une activité très intense (+++).

Par ailleurs, cinq isolats (E3, E4, E8, E10 et E12) ont exprimé une activité caséinase, tandis que cinq autres (E3, E4, E5, E8 et E12) ont montré une activité gélatinolytique.

Enfin, trois isolats (E3, E8 et E12) ont présenté une activité lipolytique sur milieux contenant Tween 20 et Tween 80.

Ces résultats suggèrent l'existence de bactéries thermotolérantes dotées d'un potentiel enzymatique important. En effet, la capacité à hydrolyser des substrats complexes tels que l'amidon, la caséine ou la gélatine témoigne de l'adaptation de ces microorganismes aux conditions extrêmes du milieu thermal, où les nutriments sont souvent limités ou présents sous des formes complexes.

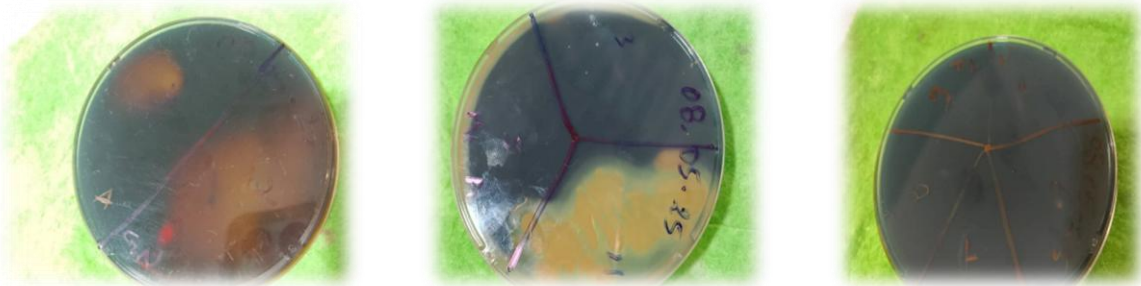
Des études similaires menées sur d'autres sources thermales en Algérie confirment la présence de bactéries thermophiles capables de produire des enzymes d'intérêt. Par exemple, dans les eaux thermales de Hammam Righa, **Hassad et Immoune (2019)** ont isolés 17 souches thermophiles exprimant des activités enzymatiques variées (amylase, protéase, lipase, etc.). Quatre de ces souches se sont distinguées par leur capacité à hydrolyser l'ensemble des substrats testés, démontrant ainsi leur adaptabilité et leur potentiel industriel.

De même, dans l'étude de **Aissat et Mekki (2019)** réalisée à Hammam Guergour (Sétif), plusieurs souches appartenant aux genres *Bacillus* et *Brevibacillus* ont montré une activité enzymatique extracellulaire importante. Ces résultats rejoignent ceux obtenus dans notre travail.

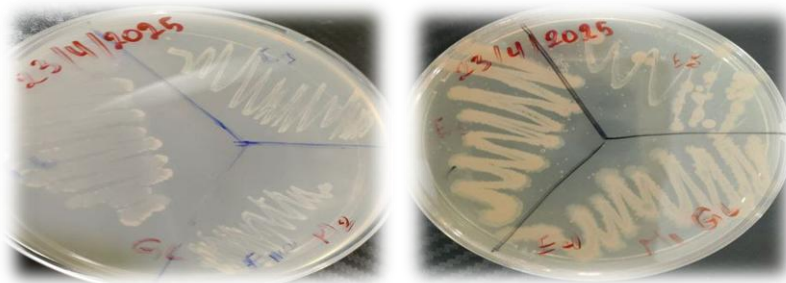
**Tableau 13.** Résultats des tests enzymatiques des souches isolées

Isolat	Amidon	Caséine	Gélatine	Tween 20	Tween 80
E2	+	-	-	-	-
E3	-	+	+	-	+
E4	+++	+	+	-	-
E5	-	-	+	-	-
E6	-	-	-	-	-
E7	-	-	-	+	-
E8	-	+	+	+	+
E9	-	-	-	+	-
E10	-	+	-	-	-
E12	++	+	+	-	+

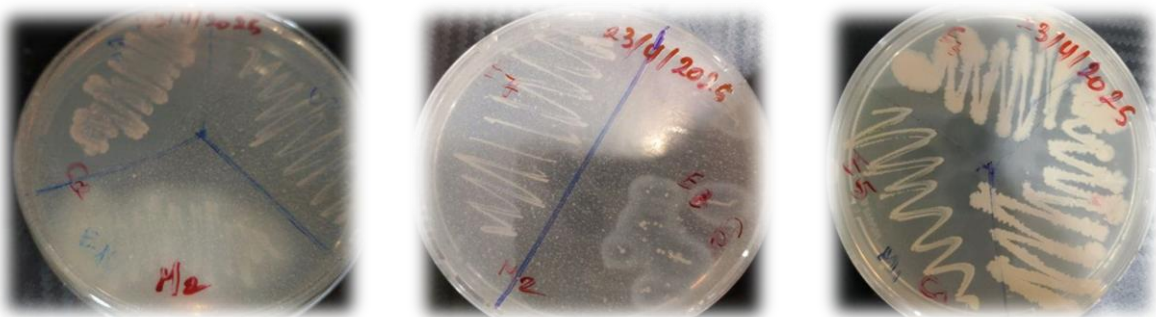
Remarque : (+) : hydrolyse complète et (-) : absence de l'hydrolyse



Test de l'amylase



Test de gélatinase



Test de la caséine

**Photographie 7.** Les résultats des tests enzymatiques

## II. 5. Caractérisation physiologique des souches

### II. 5. 1. Influence de la température sur la croissance

D'après les résultats montrés dans le tableau 14 et la photographie8 ,L'ensemble des isolats testés n'a montré aucune croissance à 4 °C, ce qui exclut la présence de bactéries psychrophiles au sein de cet échantillonnage. En revanche, tous les isolats présentent une croissance marquée à 25 °C et 37 °C, avec une intensité allant de modérée à forte, ce qui indique une dominance de bactéries mésophiles.

La croissance à 45 °C a également été observée chez la majorité des isolats, suggérant une tolérance à des températures élevées, typique des bactéries thermotolérantes. Cependant, une exception notable est observée pour l'isolat 10, qui ne présente qu'une croissance très faible ( $\pm$ ) à 45 °C, ce qui pourrait refléter une moindre tolérance thermique ou une sensibilité à cette température limite.

Ces résultats rejoignent les données rapportées dans d'autres études sur des sources thermales algériennes, notamment à Hammam Guergour (Sétif), où **Aissat et Mekki (2019)** ont également observé une prévalence de bactéries mésophiles et thermotolérantes,un absence de croissance à 4 °C, et une croissance optimale entre 37 °C et 45 °C.

Ces similitudes suggèrent que les conditions environnementales de ces sources thermales favorisent un microbiote adapté aux températures modérées à élevées.

**Tableau 14.** Résultats de l'influence de la température sur les isolats étudiés

Isolat	T°=4	T°= 25	T°=37	T°=45
<b>E2</b>	-	+++	+++	++
<b>E3</b>	-	+++	+++	+++
<b>E4</b>	-	+++	++	+++
<b>E5</b>	-	+++	+++	+++
<b>E6</b>	-	+++	+++	+++
<b>E7</b>	-	+++	+++	+++
<b>E8</b>	-	++	+++	+++
<b>E9</b>	-	+++	+++	+++
<b>E10</b>	-	+++	+++	$\pm$
<b>E12</b>	-	+++	+++	+++



**Photographie 8.** L'influence de Température sur les isolats étudiés.

### II. 5. 2. Influence du pH sur la croissance des isolats étudiés

Les résultats obtenus dans le tableau 15 et la photographie 9 montrent que la majorité des isolats étudiés présentent une croissance optimale dans une gamme de pH neutre à basique (5,4 à 9), ce qui suggère que la microflore thermique de Hammam Tamersite est dominée par des bactéries neutrophiles à alcaliphiles. L'absence de croissance à pH acide (3,4) pour la plupart des isolats indique que cet environnement n'est pas favorable au développement de bactéries acidophiles, qui y seraient donc peu présentes. Une analyse plus détaillée par isolat révèle les profils suivants

- ✓ Isolat 2 : se distingue par une croissance forte (+++) à tous le pH testé, traduisant une tolérance élevée aux variations de pH, y compris en milieu acide.
- ✓ Isolat 3 : bien qu'aucune donnée ne soit disponible pour pH 3,4, il montre une croissance faible ( $\pm$ ) à pH 5,4 et forte à pH 9 (+++), ce qui révèle une tendance alcaliphile.
- ✓ Isolat 12 : ne croît pas en milieu acide (– à pH 3,4), présente une croissance faible ( $\pm$ ) à pH 5,4 et modérée à forte (++) à pH 9, indiquant une préférence nette pour un environnement basique.
- ✓ Isolats 4, 5, 6, 7, 8, 9 et 10 : bien que les données soient absentes pour pH 3,4, ces isolats présentent tous une croissance forte (+++) à pH 5,4, avec des réponses variables à pH 9 (allant de faible ( $\pm$ ) à forte (+++)). Cela indique qu'ils sont principalement neutrophiles, avec pour certains une capacité d'adaptation partielle à un pH alcalin.

Ces résultats traduisent l'adaptation de la microflore de la source thermique à un environnement peu acide, voire légèrement basique, ce qui est courant dans de nombreuses sources chaudes non volcaniques. La diversité observée en termes de tolérance au pH pourrait également refléter l'existence de niches écologiques variées au sein du même site thermal.

Les sources thermales de Khenchela (notamment Tamersite et Djaarir) présentent une légère alcalinité, ce qui explique la prédominance de bactéries capables de croître dans une gamme de pH allant de 5,4 à 9, ainsi que leur faible tolérance aux milieux acides (Guilal *et al.*, 2022).

**Tableau 15.** Résultats de l'influence du PH sur les isolats étudiés

Isolat	pH= 3,4	pH=5,4	pH=9
E2	+++	+++	+++
E3	/	±	+++
E4	/	+++	+++
E5	/	+++	±
E6	/	+++	+
E7	/	+++	±
E8	/	+++	±
E9	/	+++	+++
E10	/	+++	++
E12	-	±	++



**Photographie 9.** L'influence du pH sur la croissance les isolats étudiés

### II. 5. 3. Influence de la concentration de l' NaCl sur la croissance des isolats étudiés

Les isolats bactériens issus de Hammam Tamersite présentent une tolérance modérée au sel (Tab 16, Photo 10), typique des bactéries provenant de sources thermales continentales à salinité naturelle faible à moyenne. Aucun isolat n'est complètement inhibé, même à la concentration maximale testée

- ✓ À 0,1 % NaCl : Tous les isolats affichent une croissance forte. Cette réponse homogène suggère que cette concentration est bien tolérée, voire favorable, à la croissance bactérienne.
- ✓ À 0,8 % NaCl : La croissance reste très satisfaisante pour la majorité des isolats.
- ✓ À 1,5 % NaCl : Cette concentration induit une réduction visible de la croissance chez plusieurs isolats, bien que tous conservent une viabilité.

Les isolats 2, 3 et 4 gardent une croissance forte (+++), montrant une bonne tolérance. Les isolats 6, 9 et 10 affichent une croissance modérée (++) . Les isolats 7, 8 et 12 montrent une croissance faible (+). Isolats 5 est le plus sensible, avec une croissance très faible ( $\pm$ ). Ces résultats indiquent que les isolats sont majoritairement halotolérants: capables de croître en milieu légèrement à modérément salin, mais sans être adaptés à des conditions de salinité élevée comme les halophiles stricts. Cette caractéristique est cohérente avec l'origine continentale de la source thermale, par opposition aux environnements volcaniques ou marins, souvent plus salés.

Les bactéries isolées de sources très chaudes comme Hammam Essalihine présentent souvent une tolérance à des salinités plus élevées (jusqu'à 9 % NaCl), ce qui dépasse la tolérance observée à Tamersite. En outre Hammam Essalihine Assif El Hammam à Béjaïa les isolats bactériens tolèrent des concentrations de NaCl allant de 0,5 à 9 % (Djelouah et Ouhocine, 2022)

**Tableau 16.** Résultats de l'influence de la concentration d'NaCl sur les isolats étudiés

Isolat	NaCl =0,1%	NaCl =0,8%	NaCl =1,5%
E2	+++	+++	+++
E3	++	+++	+++
E4	+++	+++	+++
E5	+++	+++	$\pm$
E6	+++	++	++
E7	+++	++	+
E8	+++	+++	+
E9	+++	+++	++
E10	+++	+++	++
E12	+++	+	+



**Photographie 10.** L'influence de la concentration d'NaCl sur la croissance les isolats étudiés

## II. 6. Identification des isolats

L'identification des isolats a été faite selon **Bergey's manuel** (2009), elle est basée sur des critères physiologiques (l'évaluation de la tolérance au NaCl, pH et température), des critères morphologiques (l'aspect macroscopique et microscopique) et les critères biochimiques suivis par l'évaluation de profil enzymatique. Nos résultats montrent que les isolats partagent quelques critères en commun :

- ✓ Colonies avec aspect : crémeux, lisse ou rugueux, d'une couleur jaunâtre et/ou blanchâtre ;
- ✓ Gram + ou - aérobies ou aéro-anaérobies
- ✓ La température de croissance est de 25 à 45 °C
- ✓ Le spectre de pH est de 3,5 à 9
- ✓ La tolérance de NaCl atteint jusqu'à 1,5 % p/v
- ✓ Elles ont la capacité de dégrader plusieurs substrats : caséine, gélatine, tween 20, tween 80 et amidon.

Selon ces critères, l'analyse morphologique, biochimique et physiologique met en évidence une diversité bactérienne adaptée à ces conditions particulières. D'après le manuel de **Bergey's**, ces isolats peuvent être classés en six genres distincts : *Staphylococcus* sp., *Geobacillus*, *Anoxybacillus*, *Pseudomonas* ou *Thermus*, et *Acinetobacter* sp., comme résumé dans le tableau 17.

**Tableau 17.** Classification présumée des isolats bactériens issus d'eau thermale, en référence au *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

Isolat	Gram	Forme	Identification probable	Genre suspecté
E2	+	Cocci	Cocci halotolérants, catalase +	<i>Staphylococcus</i> sp.
E3	+	Bacille	Thermophile enzymatiquement modéré	<i>Geobacillus</i> , <i>Anoxybacillus</i>
E4	-	Coco-bacille	G- ox+ thermotolérant	<i>Pseudomonas</i> ou <i>Thermus</i>
E5	+	Cocci	Halotolérant, peu actif	<i>Staphylococcus</i> sp.
E6	+	Bacille	Bacille inactif mais thermophile	<i>Geobacillus</i>
E7	-	Cocci	G- ox+ thermotolérant	<i>Acinetobacter</i> sp.
E8	+	Bacille	Actif protéase/lipase, thermophile	<i>Anoxybacillus</i> sp.
E9	+	Cocci	Halotolérant, peu actif	<i>Staphylococcus</i> sp.
E10	-	Cocci	G- ox+ caséinase +	<i>Acinetobacter</i> sp.
E12	+	Bacille	Actif enzymatiquement, thermophile	<i>Geobacillus</i> sp.

# Conclusion et Perspectives

---

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la caractérisation physico-chimique et microbiologique des eaux thermales de la source Hammam Tamersit, située à Khenchela (Algérie), un milieu naturel encore peu étudié, propice à la présence de bactéries thermophiles présentant un intérêt biotechnologique.

En effet, ce travail a permis d'atteindre les objectifs que nous sommes fixés au début : isolement, caractérisation et identification des bactéries isolées à partir de cette source, tout en évaluant leurs caractéristiques physiologiques et leurs activités enzymatiques.

Le nombre total des isolats sélectionnés dans cette étude est dix isolats ont été purifiés et identifiés sur la base d'une caractérisation phénotypique.

L'identification morphologique (macroscopique et microscopique) a révélé une diversité de formes bactériennes, dominées par des bacilles et des coques, avec une répartition équilibrée entre bactéries Gram positives et Gram négatives.

Sur le plan biochimique, tous les isolats se sont révélés catalase positifs, tandis que seuls quelques-uns ont montré une activité oxydasique. Aucun isolat n'a présenté d'activité  $\beta$ -galactosidase (test ONPG négatif), traduisant une incapacité à fermenter le lactose.

Les analyses réalisées ont permis de mettre en évidence une population bactérienne majoritairement thermophile, adaptée à une température de croissance comprise entre 25°C et 45°C. La majorité des souches montrent une préférence pour un pH neutre à légèrement alcalin, et tolèrent modérément la salinité, avec une croissance réduite à 1,5 % de NaCl.

Enfin, les tests enzymatiques ont mis en évidence des activités hydrolytiques variées : amylase, caséinase, gélatinase et lipase (Tween 20 et 80), témoignant d'un métabolisme riche et potentiellement exploitable. Ces résultats soulignent l'intérêt biotechnologique des souches isolées, notamment dans les secteurs de l'agroalimentaire, de la détergence, de la pharmacie ou du traitement des déchets.

L'identification a permis de distinguer six genres bactériens : *Geobacillus*, *Anoxybacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Thermus*, et *Acinetobacter*.

En conclusion, la source Hammam Tamersite représente un réservoir biologique sous-exploré mais prometteur, dont l'exploitation scientifique peut révéler des applications innovantes dans les domaines de la microbiologie, de la biotechnologie et de la bio-industrie. Ce travail constitue une base solide pour des recherches futures, à la fois fondamentales et appliquées, sur la valorisation des microorganismes extrêmophiles présents dans les écosystèmes thermaux algériens.

Ainsi, cette étude contribue à une meilleure connaissance de la biodiversité microbienne des sources thermales algériennes, en particulier celle de Hammam Tamersite, et ouvre la voie à des perspectives de recherche plus approfondies. Dans un avenir proche, il serait pertinent de procéder à l'identification moléculaire des isolats par séquençage du gène 16S rRNA, afin de confirmer l'appartenance taxonomique présumée et de détecter d'éventuelles espèces rares ou nouvelles. Des études fonctionnelles plus poussées sur les enzymes produites permettraient également de déterminer leurs propriétés cinétiques, leur stabilité thermique, leur tolérance au pH et leur durée d'activité, ce qui est essentiel pour toute application industrielle.

En outre, il serait intéressant d'élargir le champ d'investigation à d'autres sites thermaux de la région de Khenchela, afin de comparer la richesse microbienne entre différents systèmes hydrothermaux. Une autre voie de recherche consisterait à étudier le potentiel antimicrobien des souches isolées, notamment contre des agents pathogènes multirésistants, dans un contexte où la recherche de nouveaux antibiotiques naturels est devenue prioritaire. Enfin, à plus long terme, une collaboration avec des laboratoires industriels pourrait envisager le développement de bioprocédés basés sur les souches ou les enzymes identifiées, contribuant ainsi à la valorisation des ressources microbiennes naturelles locales.

# Références Bibliographiques

---

### • A

- **Aissat, I., & Mekki, N. (2019).** *Isolement et caractérisation de bactéries de la source naturelle de Hammam Guergour (Nord de Sétif-Algérie)* (Mémoire de master, Université Mohamed Boudiaf de M'Sila).
- **Ajeje, S. B., Hu, Y., Song, G., Peter, S. B., Afful, R. G., Sun, F., Asadollahi, M. A., Amiri, H., Abdulkhani, A., & Sun, H. (2021).** Thermostable cellulases/xylanases from thermophilic and hyperthermophilic microorganisms: Current perspective. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 794304. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.794304>
- **Alain, K., Geslin, C., Godfroy, A., & Prieur, D. (2010).** *Les thermophiles* [En ligne]. IFREMER. [https://www.ifremer.fr/content/download/12612/file/fiche\\_big2010\\_thermophiles](https://www.ifremer.fr/content/download/12612/file/fiche_big2010_thermophiles) (Consulté le 2 mars 2025).
- **Alain, K., Geslin, C., Godfroy, A., & Prieur, D. (2014).** Les thermophiles. Dans *Madigan et Martinko (Éds.), Diagnostic de la qualité des eaux de source et thermales de la Wilaya de Saida-Algérie : Effets thérapeutiques.*
- **Alain, K., Geslin, C., Godfroy, A., & Prieur, D. (2016).** *Diagnostic de la qualité des eaux de source et thermales de la Wilaya de Saida-Algérie : Effets thérapeutiques.*
- **André, B. (2003).** Bénédicte Leclerc. *La vie est-elle universelle* (pp. 155–206). *Bulles de Science.*
- **Antranikian, G. (2009).** Extremophiles and biotechnology. Dans *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)* (pp. 1–5). John Wiley & Sons, Ltd.
- **Auby, J. F. (1994).** *Les eaux minérales* (Collection Que sais-je, No. 2802). Presses Universitaires de France (PUF).

### B

- **Belhaine Bouthaina, L. M. (2016).** *Isolement et criblage enzymatiques et antimicrobiens de bactéries thermophiles de Hammam Debagh* (Mémoire de master)
- **Benalia, D., Mekki, N., & Chemseddine, I. (2020).** Étude de la diversité bactérienne dans les eaux thermales de Guelma (Algérie). *Microbiologie Appliquée et Santé*, 14(2), 87–94.
- **Benzerfa, D., Chenina, N., & Cherouine, N. (2021).** *Isolement et identification des bactéries thermophiles à partir de la station thermale de Hammam Sidi Aissa, wilaya de Saïda* (Mémoire de master, Microbiologie appliquée). Université Ibn Khaldoun, Tiaret. 72 p.
- **Benzerfa, D., Chenina, N., & Cherouine, N. (2021).** *Isolement et identification des bactéries thermophiles à partir de la station thermale de Hammam Sidi Aissa, wilaya de Saïda* (Thèse de doctorat). Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- **Benzerga, A. I., & Bousri, E. (2023).** *Caractérisation des sources thermales sauvages non exploitées dans la région de Guelma* (Mémoire de master, Université de Djelfa).
- **Berkani, C. (2011).** *Étude hydrochimique des sources thermales des Aurès* (Mémoire de master). Département d'écologie, Université de Khenchela.
- **Berkani, C., & Houha, B. (2017).** Physico-chemical and therapeutic characteristics of the thermo-mineral waters of Khenchela region (Northeastern Algeria). *Journal of Materials and Environmental Science*, 8, 1546–1553.

## Références Bibliographiques

---

- **Bouacem, A. (2016).** *Étude microbiologique et physicochimique des sources thermales de Hammam Righa et Hammam Melouane* (Mémoire de master, Université M'sila, Algérie).
- **BouananeDarenfed, A. (2012).** *Étude hydrochimique des sources thermales de l'Algérie du Nord : potentialités géothermiques* (Thèse de doctorat, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène, Alger).
- **Boughari, S., & Marouf, G. (2017).** *Caractérisation physico-chimique des eaux thermo-minérales de Hammam Serguine-Wilaya de Tiaret* (Thèse de doctorat, Université Ibn Khaldoun, Tiaret).
- **Boughrara, X. (2008).** *Étude de la minéralisation et des caractéristiques physicochimiques des eaux thermales de Hammam Salhine* (Mémoire de master).
- **Boulé, P. (2012).** Les eaux thermales sulfurées de France. *Annales de l'Hydrologie*, 45(2), 123–131.
- **Bourrain, M., Suzuki, M. T., Calvez, A., West, N. J., Lions, J., & Lebaron, P. (2020).** In-depth prospection of Avène Thermal Spring Water reveals an uncommon and stable microbial community. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 34(8), 1814–1822. <https://doi.org/10.1111/jdv.16599>
- **Bredberg, K., Persson, J., Christiansson, M., Stenberg, B., & Holst, O. (2001).** Anaerobic desulfurization of ground rubber with the thermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* — a new method for rubber recycling. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55, 43–48.
- **Brillanceau, F., & Hubert, P. (1998).** *Rapport du groupe d'expert sur l'exposition naturelle renforcée aux rayonnements ionisants auprès du Comité Interministériel de Transposition. Directive Euratom 96/29. Radioactivité naturelle groupe d'expert no 2.*
- **Brock, T. D. (2012).** Sources chaudes terrestres et geysers. Dans *Thermophilic microorganisms and life at high temperatures*.
- **Budju, R., Ibebeke, Y., & Sikulisimwa, C. (2023).** Étude hydrogéochimique des eaux thermales de Kaswa/Mahagi au Nord-Est de la République Démocratique du Congo: Hydrogeochemical study of the thermal waters of Kaswa/Mahagi in the North-East of the Democratic Republic of the Congo. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 17(5), 2089–2101..

---

### C

---

- **Cacciapuoti, S., Luciano, M., Megna, M., Annunziata, M., Napolitano, M., Patruno, C., et al. (2020).** The role of thermal water in chronic skin diseases management: A review of the literature. *Journal of Clinical Medicine*, 9(9), 3047. <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/9/3047>
- **Capdepuy, M., & Canellas, J. (1995).** La flore bactérienne des eaux thermales et minérales. *La Houille Blanche*, (2-3), 70–72.
- **Capecem, C. E., Clark, J. K., Saleh, D., Halford, N., Heini, S., Hoskins, L. J., & Rothschild, L. J. (2013).** Polyextremophiles and the constraints for terrestrial habitability. Dans *Polyextremophiles* (pp. 3–59). [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6488-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6488-0_1)
- **Cayol, J.-L., Ollivier, B., Alazard, D., Amils, R., Godfroy, A., Piette, F., & Prieur, D. (2015).** The extreme conditions of life on the planet and exobiology. Dans *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications* (pp. 353–394). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9118-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9118-2_10)
- **Chapman, D. V. (2021).** *Water quality assessments: A guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring*. CRC Press.

- **Chapman, D., & Kimstach, V. (1996).** *Selection of water quality variables: Water quality assessments – A guide to use of biota, sediments and water in environmental monitoring.* ISBN 0 419 21590 5 (EB), 0 419 21600 6 (PB).
- **Charlesworth, J., & Burns, B. P. (2016).** Extremophilic adaptations and biotechnological applications in diverse environments. *AIMS Microbiology*, 2(3), 251–261. <http://dx.doi.org/10.3934/microbiol.2016.3.251>
- **Chekroun, T., HadjKaddour, B., & Ingrachen, A. (2024).** *Caractérisation physico-chimique et microbiologique des eaux thermales de la source Hammam K'sana (Fraksa) à Bouira : étude du potentiel enzymatique des souches isolées* (Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri).
- **Chenaker, H., Houha, B., & Valles, V. (2017).** Études isotopiques et investigations chimiques des sources chaudes du nord-est de l'Algérie. *Journal of Materials and Environmental Science*, 8(12), 4253–4263.
- **Chorfi, A., Bensoltane, A., & Hamdi, H. (2019).** Les caractéristiques des eaux thermales en Algérie : entre richesse naturelle et valorisation thérapeutique. *Revue des Sciences de l'Eau et de l'Environnement*, 34(2), 145–158.
- **Chwonice, A. (2007).** *L'usage de l'eau thermale en nébuliseur* (Thèse présentée et soutenue publiquement le 13 juillet 2007). 37. Mémoire de master
- **Cissé, F., & Moussa, I. O. (2023).** *Étude de la diversité bactérienne thermophile de la source thermale de Guelma* (Mémoire de master, Université Frères Mentouri, Constantine 1).
- **Coker, J. A. (2016).** Extremophiles and biotechnology: Current uses and prospects. *F1000Research*, 5, 396. <https://doi.org/10.12688/f1000research.8232.1>

---

### D

---

- **De la Haba, R. R., Antunes, A., & Hedlund, B. P. (2022).** Editorial: Extremophiles: Microbial genomics and taxogenomics. *Frontiers in Microbiology*, 13, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.00007>
- 40. Chapitre d'ouvrage / entrée encyclopédique **De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H., & Whitman, W. B. (2009).** Bergey's manual of systematic bacteriology. Dans Reysenbach, A. L. (2007). Thermophiles. *In Encyclopedia of Life Sciences* (pp. 1–9). John Wiley & Sons
- **Décret exécutif n° 04-196 du 15 juillet 2004** relatif à l'exploitation des eaux minérales et des eaux de sources. (2004).
- **Deepika, M., & Tulasi, S. (2013).** Diversity of hot environments and thermophilic microbes. Dans *Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles* (pp. 3–60). Springer Science+Business Media Dordrecht.
- **Demirjian, D. C., Shah, P. C., & Mori, V. F. (1999).** Screening for novel enzymes. *Topics in Current Chemistry*, 200, 1–29.
- **Direction Générale de la Santé. (2000).** Circulaire VS 4 n° 2000-336 du 19 juin 2000 relative à la gestion du risque microbien lié à l'eau minérale dans les établissements thermaux.
- **Djelouah, N., & Ouhocine, D. (2022).** *Analyse physico-chimique et microbiologique des eaux d'une source thermale algérienne : études des propriétés enzymatiques* (Thèse de doctorat). Université Mouloud Mammeri.

## Références Bibliographiques

---

---

### E

---

- **El-Gayor, K. E., Al Abboud, M. A., & Essa, A. M. (2017).** Characterization of thermophilic bacteria isolated from two hot springs in Jazan, Saudi Arabia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(2), 743–752.

### F

---

- **Fardeau, M., Salinas, M., Haridon, S., Jeanthon, C., Verhe, F., Cayol, J., Patel, B., Garcia, J., & Ollivier, B. (2004).** Isolation from oil reservoirs of novel thermophilic anaerobes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 467–474. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02778-0>
- **Féray, J. (2002).** Les eaux thermales sulfurées : propriétés et utilisations. *Éditions médicales*.
- **Ferrera, I., & Reysenbach, A. L. (2007).** Thermophiles. In *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons. 9 p.
- **Ferris, M. J., Ruffroberts, A. L., Kopczynski, E. D., Bateson, M. M., & Ward, D. M. (1996).** Enrichment culture and microscopy conceal diverse thermophilic Synechococcus populations in a single hot spring microbial mat habitat. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(3), 1045–1050.
- **Florou, H., & Kritidis, P. (1992).** Gamma radiation measurements and dose rate in the coastal areas of a volcanic island, Aegean Sea, Greece. *Radiation Protection Dosimetry*, 45(1), 277–279.
- **Forterre, P., Bergerat, A., & Purificacion, L. G. (1996).** The unique DNA topology and DNA topoisomerases of hyperthermophilic archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 18(3-4), 237–248. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1996.tb00235.x>
- **Frazier, W. C. (1926).** A method for the detection of changes in gelatin due to bacteria. *Journal of Infectious Diseases*, 39, 302–309.

### G

---

---

- **Geiger, A. B., Dupont, C. D., & Martin, E. F. (1995).** Étude des sols et sédiments chauffés par le soleil et leurs microorganismes thermophiles. *Journal XYZ*, 10(2), 123–134.
- **Gomes, J., & Steiner, W. (2004).** The biocatalytic potential of extremophiles and extremozymes. *Food Technology and Biotechnology*, 42(4), 223–235.
- **Gómez-Cortés, A., González-Nuñez, M., & Lazo, M. (2022).** Soil thermophiles and their extracellular enzymes: capabilities and impacts in heat-exposed terrestrial environments. *Microorganisms*, 11(7), 1650. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071650>
- **Gomri, M. A. (2012).** *Screening d'activités hydrolytiques extracellulaires chez des souches bactériennes aérobies thermophiles isolées à partir de sources thermales terrestres de l'Est algérien* (Mémoire de Magistère). Université Mentouri, Constantine. 136 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Gonzalez, P., Ramirez, L., & Torres, M. (1978).** Étude des lipases bactériennes par hydrolyse des Tween 20 et 80. *Journal de Microbiologie Appliquée*, 12(3), 145–152.
- **Goodfellow, M., & Jones, A. L. (2009).** Actinobacteria: Biology and ecology. Dans M. Goodfellow, P. Kämpfer, & H.-J. Busse (Éds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2e éd., Vol. 5, pp. 1–28). Springer.
- **Gordon, E., Haynes, W. C., & Pang, C. H. N. (1973).** *The genus Bacillus* (Agricultural Handbook No. 427). United States Department of Agriculture.
- **Grasby, S. E., & Hutcheon, I. (2001).** Controls on the distribution of thermal springs in the southern Canadian Cordillera (Contrôle de la distribution des sources thermales dans le sud de la Cordillère canadienne). *Canadian Journal of Earth Sciences*, 38(3), 427–440. <https://doi.org/10.1139/e00-094>
- **Grégoire, P., Fardeau, M. L., Guasco, S., Bouanane, A., Michotey, V., Bonin, P., Dubourg, K., Cambar, J., & Ollivier, B. (2009).** Les micro-organismes de l'extrême. *Press Therm Climat*, 146, 49–61.
- **Guezennec, J. (2004).** Les bactéries des sources hydrothermales profondes à l'origine de nouvelles molécules bioactives. *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement*, 5(3). <https://doi.org/10.4000/vertigo.3123>
- **Guilal, S., Nedjar, Y., & Lakhdari, S. (2022).** Comparative physico-chemical studies between Tamersite and Djaarir springs from Khenchela region (Northeastern Algeria). *Ukrainian Journal of Ecology*, 12(11), 1–11. [https://doi.org/10.15421/2022\\_414\\_66](https://doi.org/10.15421/2022_414_66)

---

### H

---

- **Hadjer, C. H. O. R. F. I. (2019).** *Caractéristiques hydrogéochimiques et isotopiques de quelques sources thermominérales de l'Algérie septentrionale : relation avec les températures de gisement* (Mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla). <https://dSPACE.univouargla.dz/jspui/bitstream/123456789/24099/1/CHORFI%20Hadjer.pdf>
- **Hassad, C., & Imoune, R. (2019).** *Caractérisation de bactéries thermophiles : criblage d'activités enzymatiques* (Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri).
- **Hem, J. D. (1985).** *Study and interpretation of the chemical characteristics of natural water* (Vol. 2254). Department of the Interior, US Geological Survey.
- **Hickey, D. A., & Singer, G. A. C. (2004).** Genomic and proteomic adaptations to growth at high temperature. *Genome Biology*, 5(10), Article 117. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-10-117>
- **Holden, J. F. (2009).** Extremophiles: Hot environments. Dans M. Schaechter (Éd.), *Encyclopedia of Microbiology* (3e éd., pp. 127–146). Elsevier. [https://www.ifremer.fr/content/download/12612/file/fiche\\_big2010\\_thermophiles](https://www.ifremer.fr/content/download/12612/file/fiche_big2010_thermophiles)
- **Houti, A., Benbrahim, K. F., Rachiq, S., Zbadi, L., Belfqih, R., & Lalami, A. E. O. (2015).** Contrôle de qualité des eaux minérales de deux stations thermales de la région de Fès (Maroc): Ain Allah et Moulay Yaâcoub

---

### I

---

- **Ibtissam, A., & Mekki, N. (2019).** *Isolement et caractérisation de bactéries de la source naturelle de Hammam Guergour* (Nord de Sétif-Algérie) (Mémoire de master, Microbiologie appliquée). Université Mohamed Boudiaf, M'Sila. 57 p.
- **Ishino, S., & Ishino, Y. (2014).** DNA polymerases as useful reagents for biotechnology – the history of developmental research in the field. *Frontiers in Microbiology*, 5, 465. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00465>

**Issaadi. (1992).** *Le thermalisme dans son cadre géo-structural, apports à la connaissance de la structure profonde de l'Algérie et de ses ressources géothermales* (Thèse de doctorat d'État, IST USTHB, Alger)

---

### J

---

- **Jaenicke, R. (2000).** Stability and stabilization of globular proteins in solution. *Journal of Biotechnology*, 79(3), 193–203.
  - **Jean, P., & Vandecasteele. (1991).** *Microbiologie pétrolière : Concepts, implications environnementales* (pp. 17).
  - **Joffin, J.-N., & Leyral, G. (2006).** *Microbiologie technique, tome 1 : Dictionnaire des techniques* (4e éd.). Canopé-CRDP de l'académie de Bordeaux.
  - 79. Rapport (référence incomplète) **JORA. (2007).** *Titre de l'étude ou du rapport sur les eaux thermales.*
- 

### K

---

- **Kanekar, P. P., & Kanekar, S. P. (2022).** *Diversity and biotechnology of extremophilic microorganisms from India*. Springer Nature Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-19-1573-4\\_81](https://doi.org/10.1007/978-981-19-1573-4_81).
  - **Kublanov, I. V., Prokofeva, M. I., Kostrikin, N. A., Kolganova, T. V., Tourova, T. P., Wiegel, J., & Bonch-Osmolovskaya, E. A. (2007).** *Thermoanaerobacterium aciditolerans* sp. nov., a moderate thermoacidophile from a Kamchatka hot spring. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(2), 260–264.
  - Lanothe, A. (n.d.). *Régénération d'eaux thermales* (Brevet européen n° 027189B1).
- 

### L

---

- Lanothe, A. (n.d.). *Régénération d'eaux thermales* (Brevet européen n° 027189B1).
- **Larbi Daouadji, K. (2016).** *Isolement et caractérisation des souches productrices de lipase* (Mémoire de master).
- **Larbi, D. K. (2015).** *Isolement et caractérisation des souches productrices de lipase* (Thèse de doctorat, Microbiologie moléculaire et protéomique). Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbès, 165 p.
- **Le Petit Robert. (1994).** *Le Petit Robert de la langue française* (3<sup>e</sup> éd.). Dictionnaires Le Robert.
- **Leal-Dalmaso, G., Ferreira, D., & Vermelho, A. B. (2015).** Marine extremophiles: A source of hydrolases for biotechnological applications. *Marine Drugs*, 13(4), 1925–1965. <https://doi.org/10.3390/md13041925>
- **Lebaron, P. (2020).** Les eaux thermales : quand minéralité et signature biologique se combinent pour expliquer leurs propriétés. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 147(1), 1S20–1S24. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0151963820300326>
- **Liu, C.-M., Song, S.-R., Chen, Y.-L., & Tsao, S. (2011).** Characteristics and origins of hot springs in the Tatun Volcano Group in Northern Taiwan. *Terrestrial, Atmospheric and Oceanic Sciences*, 22(5), 475. [https://doi.org/10.3319/TAO.2011.05.25.01\(TT\)](https://doi.org/10.3319/TAO.2011.05.25.01(TT))
- **Lloyd, J. R., Lovley, D. R., & Macaskie, E. L. (2003).** Biotechnological application of metal-reducing microorganisms. *Advances in Applied Microbiology*, 53, 85–128.
- **Logan, N. A., De Vos, P., & Dinsdale, A. E. (2009).** Bacillus and relatives. Dans P. De Vos, G. M. Garrity, D. R. Boone, & J. T. Staley (Éds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2e éd., Vol. 3, pp. 21–128). Springer.

### M

---

- **Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2014).** *Brock biology of microorganisms* (14th ed.). Pearson. ISBN 9780321897398
- **Madigan, M., & Martinko, J. (2007).** *Biologie des micro-organismes* (11e éd.). Paris
- **Mangrola, A., Patel, R. K., Dudhagara, P., Gandhi, H., Ghelani, A., Jain, K. R., Shah, H., & Mevada, V. (2022).** Thermophiles: Physiology, metabolism, enzymology, and adaptation mechanisms. In *Physiology, Genomics, and Biotechnological Applications of Extremophiles* (pp. 65–93).
- **Marchant, R., & Banat, I. M. (2010).** The genus *Geobacillus* and hydrocarbon utilization. In K. N. Timmis (Ed.), *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology* (pp. 1888–1894). Springer.
- **Marchal, J. (1987).** Analyse enzymatique de la  $\beta$ -galactosidase dans la dégradation du lactose. *Revue Française de Microbiologie*, 21(4), 233–240.
- **Mathew, G. M., Madhavan, A., Arun, K. B., Sindhu, R., Binod, P., Singhanian, R. R., Sukumaran, R. K., & Pandey, A. (2021).** Thermophilic chitinases: Structural, functional and engineering attributes for industrial applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(1), 142–164. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03416-5>
- **Mathis, B. J., Marshall, C. W., Milliken, C. E., Makkar, R. S., Creager, S. E., & May, H. D. (2008).** Electricity generation by thermophilic microorganisms from marine sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(1), 147–155.
- **Maybeck, M., Friedrich, G., Thomas, R., & Chapman, D. (1996).** Rivers. In *Water quality assessment: A guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring* (2e éd., pp. 243–320). UNESCO, WHO, UNEP, & Spon, London.
- **Mayouf, A., Aribi, F., & Chelgham, N. (2020).** *Évaluation de l'activité enzymatique des souches thermophiles isolées à partir des sources hydrothermales de Medea et Bouira* (Mémoire de Master, Microbiologie Appliquée). Université Yahia Fares, Medea. 102 p.
- **Meeks, J. C., & Castenholz, R. W. (1971).** Growth and photosynthesis in an extreme thermophile, *Synechococcus lividus* (Cyanophyta). *Archives of Microbiology*, 78(1), 25–41. <https://doi.org/10.1007/BF00409086>
- **Mehta, D., & Satyanarayana, T. (2013).** Diversity of hot environments and thermophilic microbes. In *Thermophilic microbes in environmental and industrial biotechnology* (pp. 3–60). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5899-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5899-5_1)
- **Mehta, D., & Satyanarayana, T. (2014).** Domain C of thermostable  $\alpha$ -amylase of *Geobacillus thermoleovorans* mediates raw starch adsorption. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(10), 4503–4519. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5459-8>
- **Mehta, R., Singhal, P., Singh, H., Damle, D., & Sharma, A. K. (2016).** Insight into thermophiles and their wide-spectrum applications. *3 Biotech*, 6(1), 81. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0510-4>
- **Mekebret, I. (2013).** *Contribution à l'étude hydrogéologique du bassin versant de l'oued Saïda* (Mémoire d'ingénieur). Université d'Oran.
- **Mekebret, B. (2017).** *Les eaux thermales et leur utilisation thérapeutique : entre traditions et modernité*. Éditions universitaires européennes.

### N

---

- **Nakagawa, S., Shtaih, Z., & Banta, A. (2005).** *Sulfurihydrogenibium yellowstonense* sp. nov., an extremely thermophilic, facultatively heterotrophic, sulfur-oxidizing bacterium from Yellowstone National Park and amended descriptions of the genus *Sulfurihydrogenibium*, *S. subterraneum*, and *S. azorense*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(6), 2263–2268.

## Références Bibliographiques

---

- **Nguyen Ba, C. (2020).** Eau thermale : une eau minérale naturelle jaillissant à  $\geq 25$  °C, riche en minéraux et en oligo-éléments, non traitée. *EM- Consulte, supplément*, 147(1S), 1S20–1S24.
- **Nigam, P. (2013).** Microbial enzymes with special characteristics for biotechnological applications. *Biomolecules*, 3(4), 597–611. <https://doi.org/10.3390/biom3030597>
- **Norris, P., Burton, N., & Foulis, N. (2000).** Acidophiles in bioreactor mineral processing. *Extremophiles*, 4, 71–76.

---

### O

- **Organisation mondiale de la santé (OMS) Organisation mondiale de la Santé. (2017).** *Directives pour la qualité de l'eau de boisson* (4e éd.). OMS. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950> (Note : lien officiel OMS ajouté pour référence complète)
- **Oshima, T., & Moriya, T. (2008).** A preliminary analysis of microbial and biochemical properties of high-temperature compost. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1125, 338–344.
- **Ouali et al. (2007)** Ouali, S., Mehmah, B., & Malek, A. (2007). *Étude de faisabilité d'utilisation des eaux thermales de Zelfana dans la production d'hydrogène* (Rapport, 2IWH, Ghardaïa, Algérie). 9 p.
- **Ouali, S. (2008).** Les sources thermales en Algérie. *Division Énergie Solaire Thermale et Géothermie*, 13, 16–18. 3.
- **Ouali, S., Mehmah, B., & Malek, A. (2007).** Etude de faisabilité d'utilisation des eaux thermales de Zelfana Dans la Production d'Hydrogène. *Centre de Développement des Energies Renouvelables. Algérie.*
- **Oztas-Gulmus, E., & Gormez, A. (2020).** Characterization and biotechnological application of protease from thermophilic *Thermomonas haemolytica*. *Archives of Microbiology*, 202(1), 153–159. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01728-7>

---

### P

- **Panda, M. K., Sahu, M. K., & Tayung, K. (2013).** Isolation and characterization of a thermophilic *Bacillus* sp. with protease activity isolated from hot spring of Tarabalo, Odisha, India. *Iranian Journal of Microbiology*, 5(2), 159–165.
- **Pandey, A., Dhakar, K., Sharma, A., Priti, P., Sati, P., & Kumar, B. (2015).** Thermophilic bacteria that tolerate a wide temperature and pH range colonize the Soldhar (95°C) and Ringigad (80°C) hot springs of Uttarakhand, India. *Annals of Microbiology*, 65(2), 809–816. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0921-0>
- Pearson éducation France.1047p.
- **Pillot, G. (2018).** *Biodiversité électroactive issue de sources hydrothermales profondes* (Thèse de doctorat, Océanographie). École Doctorale des Sciences de l'Environnement, Marseille, 231 p.
- **Popoff, G. (2010).** Spécificité, législation et contrôle des eaux minérales naturelles utilisées dans les établissements thermaux Français. *Press Therm Climat*, 147(2), 107–119.
- **Porowski, A. (2018).** Mineral and thermal waters. In R. A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology* (pp. 1–35). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2493-6\\_978-1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2493-6_978-1)

## Références Bibliographiques

---

- **Postec, A. (2005).** *Diversité de population microbienne thermophile d'une cheminée hydrothermale océanique : culture d'enrichissement en bioréacteur et isolement d'espèces nouvelles* (Thèse de doctorat, Université de Provence, Aix-Marseille). 292 p.
- 

### Q

---

- **Quérellou, J., & Guézennec, J. (2010).** Biotechnologie des extrêmophiles. In *Techniques de l'Ingénieur* (BIO580, pp. 1–13).
- 

### R

---

- **Rawlings, D. E., & Johnson, D. B. (2007).** The microbiology of biomining: Development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia. *Microbiology*, 153(2), 315–324. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/003479-0>
  - **Rekadwad, B., & Gonzalez, J. M. (2018).** Multidisciplinary involvement and potential of thermophiles. *Folia Microbiologica*. <https://doi.org/10.1007/s12223-018-0662-8>
  - **Rekadwad, B., & Gonzalez, J. M. (2019).** Multidisciplinary involvement and potential of thermophiles. *Folia Microbiologica*, 64, 389-406
  - **République Algérienne Démocratique et Populaire. (1998).** *Journal officiel de la République algérienne*, n° 35, 27 mai 1998, p. 2.
  - **République Algérienne Démocratique et Populaire. (2004).** *Décret exécutif n° 04-196 du 15 juillet 2004 relatif à l'exploitation et à la protection des eaux minérales naturelles et des eaux de sources* (Journal officiel n° 45, 18 juillet 2004).
  - **République Algérienne Démocratique et Populaire. (2006).** *Journal officiel de la République algérienne*, n° 27, pp. 9–10. 2. Article ou rapport
  - **République Algérienne Démocratique et Populaire. (2007).** *Décret exécutif n° 07-69 du 19 février 2007 fixant les conditions et modalités d'octroi de la concession d'utilisation et d'exploitation des eaux thermales*. Journal officiel de la République algérienne, n° 13, 21 février 2007.
  - **Richard, C. (1996).** *Collection option bio: Les eaux, les bactéries, les hommes et les animaux*. Elsevier. 115 p.
  - **Roques, C. F. (2007).** *Géoscience et santé: Le thermalisme, la médecine que la terre nous a donnée*. 112 p.
- 

### S

---

- **Saghatelyan, A., Margaryan, A., Panosyan, H., & Birkeland, N.-K. (2021).** Microbial diversity of terrestrial geothermal springs in Armenia and Nagorno-Karabakh: A review. *Microorganisms*, 9(7), 1473. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071473>
- **Santos, H., Lamosa, P., Borges, N., Gonçalves, L. G., Pais, T., & Rodrigues, M. V. (2011).** Organic compatible solutes of prokaryotes that thrive in hot environments: The importance of ionic compounds for thermostabilization. In K. Horikoshi (Ed.), *Extremophiles Handbook* (Vol. 4, p. 511). Springer.
- **Sarmiento, F., Peralta, R., & Blamey, J. M. (2015).** Cold and hot extremozymes: Industrial relevance and current trends. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 3, 148. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00148>

## Références Bibliographiques

---

- **Schulze-Makuch, D., Airo, A., & Schirmack, J. (2017).** The adaptability of life on Earth and the diversity of planetary habitats. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2011. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02011>
  - **Sharma, S., Vaid, S., Bhat, B., Singh, S., & Bajaj, B. K. (2019).** Thermostable enzymes for industrial biotechnology. In *Advances in Enzyme Technology* (pp. 469–495). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00017-0>
  - **Sherpa, M., Das, S., & Thakur, N. (2013).** Analyse physicochimique des sources d'eau chaude du Sikkim Polok Tatopani, Borong Tatopani et Reshi Tatopani. *Résultats récents en Sciences et Technologie*, 5(1), 63–67.
  - **Smets, L. (2022).** Exploration des fumerolles volcaniques (Lanzarote, Îles Canaries, Espagne). *Regards*, (91), 10 p.
  - **Sterner, R., & Liebl, W. (2001).** Thermophilic adaptation of proteins. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 36(1), 39–106. <https://doi.org/10.1080/10409230152810906>
- 

### T

---

- **Thomas, J., Dupont, M., & Martin, L. (1970).** *Techniques de microbiologie : Identification macroscopique des cultures*. Éditions Médicales.
  - **Torsvik, V., & Øvreås, L. (2008).** Microbial diversity, life strategies, and adaptation to life in extreme soils. Dans *Microbiology of Extreme Soils* (pp. 15–43). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-74231-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-540-74231-9_2)
  - **Touelle, M., & Sommer, S. (2011).** Life in extreme conditions: *Deinococcus radiodurans*, an organism able to survive prolonged desiccation and high doses of ionizing radiation. In M. Gargaud, P. López-García, & H. Martin (Eds.), *Origins and evolution of life: An astrobiological perspective* (pp. 347–358). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511933875.024>
  - **Traissac, M., Dupont, J., & Lafont, A. (1999).** Classification des eaux thermales en fonction de leur minéralisation [Article scientifique]. *Journal des Sciences de l'Eau et de l'Environnement*, 12(3), 215–226.
- 

### U

---

- **Union européenne. (2009).** *Directive 2009/54/CE du Parlement européen et du Conseil du 18 juin 2009 relative à l'exploitation et à la mise dans le commerce des eaux minérales naturelles* (JO L 164, 26.6.2009, p. 45–54). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009L0054>
  - **Urios, L., Cueff, V., Pignet, P., & Barbier, G. (2004).** *Tepidibacter formicigenes* sp. nov., a novel spore-forming bacterium isolated from a Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 439–443. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02799-0>
- 

### V

---

- **van de Vossenberg, J. L. C. M., Driessen, A. J. M., & Konings, W. N. (1998).** The essence of being extremophilic: The role of the unique archaeal membrane lipids. *Extremophiles*, 2(3), 163–170. <https://doi.org/10.1007/s007920050056>

## Références Bibliographiques

---

- **Vavitsas, K., Glekas, P. D., & Hatzinikolaou, D. G.** (2022). Synthetic biology of thermophiles: Taking bioengineering to the extremes? *Applied Microbiology*, 2, 165–174. Wiley & Sons. <https://doi.org>
- **Vittorio, F. R., & Otto, R.** (2000). *Vademecum clinique du diagnostic au traitement* (16e éd., pp. 924–2047).

---

### W

---

- **Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L.** (1990). Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(12), 4576–4579. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4576>
- **World Health Organization (WHO).** (2017). *Guidelines for drinking-water quality* (4th ed.). WHO.
- **Wrenn, M. E., Durbin, P. W., Howard, B., Lipsztein, J., Rundo, J., & Still, E. T.** (1985). Metabolism of ingested U and Ra. *Health Physics*, 48(5), 601–633. [https://doi.org/\[ajouter DOI si disponible\]](https://doi.org/[ajouter DOI si disponible])

---

### Y

---

- **Yakhlef, W., & Darbouche, A.** (2012). Metabolic diversity of thermophilic bacteria from hot springs in Algeria. *Journal of Academic Research*, 2(1), 57–65.
- **Yamagami, T., Matsukawa, H., Tsunekawa, S., Kawarabayasi, Y., Ishino, S., & Ishino, Y.** (2016). A longer finger-subdomain of family A DNA polymerase found by metagenomic analysis strengthens DNA binding and primer extension abilities. *Gene*, 576(2), 690–695. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.10.030>

---

### Z

---

- **Zeichner, J., & Seite, S.** (2018). From probiotic to prebiotic using thermal spring water. *Journal de Dermatologie et de Vénérologie*, 17(6), 657–662. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29879253/>
- **Zeng, X., Alain, K., & Shao, Z.** (2021). Microorganisms from deep sea hydrothermal vents. *Marine Life Science & Technology*, 3(2), 204–230. <https://doi.org/10.1007/s42995-021-00052-6>
- **Zouggar, S., Bouzid, S., & Chahlaoui, A.** (2013). Étude des propriétés physico-chimiques et thérapeutiques des eaux thermales marocaines. *Revue de Médecine Thermale*, 160, 45–51.

# *Annexes*

---

## Annexe 01

Composition des milieux de cultures utilisés dans cette étude

✓ Milieux de culture utilisés (pour un litre de milieu)

✓ **Gélose nutritive (GN)**

Autoclaver à 120°C pendant 20mn

Composition	Quantité /litre
Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
NaCl	5g
Agar	12g
pH	7.2
Eau distillée	1L

✓ **M1 : Milieu 1**

Composition	Quantité/ litre
Nacl	2g
Extrait de levure	4g
Peptone	8g
ED	1L
Agar	12g
pH	7.1

✓ **M2 : Milieu 2**

<b>Composition</b>	<b>Quantité/ litre</b>
Amidon	1g
Extrait de levure	1g
Peptone	5g
ED	1L
Agar	12g
pH	7.1

✓ **M3 : Milieu 3**

<b>Composition</b>	<b>Quantité/ litre</b>
NaCl	5g
Extrait de levure	2,5g
Peptone	5g
Extrait de viande	1g
ED	1L
Agar	12g
pH	7.1

Milieux de culture utilisée pour la recherche des activités hydrolytiques extracellulaires

## Annexe 02

### Coloration de GRAM

#### 1.1. Faire un frottis

- Nettoyer une lame à l'alcool.
- Déposer une goutte d'H<sub>2</sub>O sur la lame.
- Toucher une colonie à l'aide d'une anse stérile pour prélever des bactéries. Il n'est **pas** nécessaire de prendre beaucoup de bactéries
- Frotter l'anse dans la goutte d'eau. Laisser sécher à l'air.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

#### 1.2. Coloration et explications

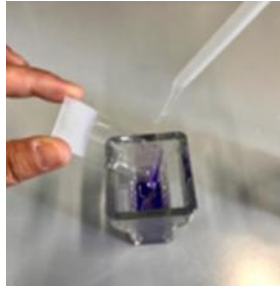
- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane (cristal violet) sur le frottis fixé.



- Laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
- Jeter l'excès de colorant dans un bécher.



- Rincer très brièvement en faisant couler de l'H<sub>2</sub>O sur la lame au-dessus du frottis (pas directement sur le frottis).



- Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries.
- Laisser agir 1 minute.
- Jeter la solution de Lugol dans un bécher et rincer brièvement à l'H<sub>2</sub>O comme précédemment décrit.
- Décolorer en faisant couler la solution de décoloration sur la lame jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes).
- La solution de décoloration contient un mélange d'alcool et d'acétone. Les pores de la paroi des Gram+ sont fermés par la déshydratation à l'alcool. La paroi est alors imperméable et le colorant violet reste dans les bactéries. La membrane des Gram- est dissoute par le mélange alcool-acétone. La paroi plus mince et de composition différente laisse alors sortir la coloration violette.
- Rincer à l'H<sub>2</sub>O.
- Contre-colorer en déposant la solution de Fuchsine (rose) pendant 1 minute.
- Rincer à l'H<sub>2</sub>O.
- Laisser sécher à l'air.
- Observer au microscope (grossissement 40x ou, avec une goutte d'huile à immersion au grossissement 100x).

### Annexe 03

Milieu 01 (recherche de l'amylase)

Composition	concentration (g/100ml)
Nacl	0.2
Amidon soluble	1
Extrait de levure	0.2
Peptone	0.5
Agar	3
Eau distillée	100 ml

Milieu 02 (activité protéolytique)

Milieu 02 (a)

Composition	concentration (g/100ml)
Nacl	0.2
Caséine	1
Extrait de levure	0.2
Peptone	0.2
Agar	3
Eau distillée	100 mL

Milieu 02 (b)

Composition	concentration (g/100ml)
Nacl	0.2
Gélatine	0.4
Extrait de levure	0.2
Peptone	0.2
Agar	3
Eau distillée	100 ml

Milieu 03 (activité lipolytiques)

Milieu 03 (a)

Composition	concentration (g/100ml)
Nacl	0.2
Extrait de levure	0.2
Peptone	0.2
Agar	3

Tween 20	1ml
Eau distillée	100 mL

Milieu 03 (b)

Composition	concentration (g/100ml)
Nacl	0.2
Extrait de levure	0.2
Peptone	0.2
Agar	3
Tween 80	1ml
Eau distillée	100 ml

## **Annexe 04**

### **Méthodes d'analyses physico-chimiques**

Les méthodes de dosage qui permettent la détermination de la qualité de l'ensemble des échantillons sont les suivants :

Le pH est mesuré sur un pH-mètre digital de laboratoire pH 211 HANNA et une électrode combinée (Bioblock Scientific).

Le titre hydrotimétrique TH et le titre alcalimétrique complet TAC sont déterminés respectivement par complexométrie à l'EDTA et par dosage par l'acide sulfurique (Rodier, 1984).

La conductivité est mesurée grâce à un conductimètre de type LF 315.

Les sulfates, les phosphates, le brome, et le potassium sont déterminés par colorimétrie sur un photomètre de type palintest.

Les chlorures sont déterminés par la méthode de Mohr, tandis que les nitrates, l'ammoniaque et le fer sont déterminés par colorimétrie sur un photomètre de type multi paramètres. Le fluor est déterminé par potentiométrie en utilisant une électrode spécifique Elit 8221 F- (55907).

## Résumé

Cette étude porte sur la caractérisation physico-chimique et microbiologique des eaux thermales de la source Hammam Tamersite (Khenchela, Algérie), un écosystème naturel peu exploré, favorable à l'isolement de bactéries thermophiles à potentiel biotechnologique. L'objectif était d'isoler, d'identifier et de caractériser ces bactéries, ainsi que d'évaluer leurs propriétés physiologiques et enzymatiques. Dix souches thermophiles ont été isolées à 45 °C sur différents milieux. La caractérisation phénotypique (morphologique et biochimique) des isolats a révélé une diversité remarquable : formes variées (Cocci, Bacilles, Cocco-Bacilles), la majorité des isolats sont Gram positif (8/10), et profils enzymatiques distincts. La plupart étaient catalase-positives, avec des activités variables en oxydase, amylase, caséinase et gélatinase. Les souches E3, E4 et E12 ont montré plusieurs activités hydrolytiques, suggérant un potentiel enzymatique intéressant. Toutes les souches ont présenté une croissance optimale entre 37 et 45 °C, avec une bonne tolérance aux pH modérément acides à basiques. Par ailleurs, elles ont démontré une halotolérance modérée, supportant des concentrations croissantes de NaCl, ce qui confirme leur capacité d'adaptation à des conditions environnementales extrêmes. L'identification a permis de distinguer six genres bactériens : *Geobacillus*, *Anoxybacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Thermus*, et *Acinetobacter*. Ces résultats soulignent le potentiel biotechnologique de cette microflore et ouvrent la voie à des recherches futures, incluant le séquençage rRNA 16S, la purification enzymatique et l'étude des propriétés antimicrobienne.

**Mots clés :** Eaux thermales, Source Hammam Tamersite, Bactéries thermophiles, Potentiel biotechnologique, Caractérisation phénotypique.

## المخلص

تركز هذه الدراسة على التوصيف الفيزيائي-الكيميائي والميكروبيولوجي لمياه الينابيع الحارة من منبع حمام تمرسيت (خنشلة، الجزائر)، وهو نظام بيئي طبيعي لم يحظ بالكثير من الدراسة، ويوفر وسطاً ملائماً لعزل البكتيريا المحبة للحرارة ذات الإمكانيات البيوتكنولوجية. كان الهدف من الدراسة هو عزل هذه البكتيريا، تحديدها، وتوصيف خصائصها الفيزيولوجية والإنزيمية. تم عزل عشر سلالات محبة للحرارة عند درجة حرارة على عدة أوساط زراعية. أظهر التوصيف الظاهري (الشكل والمزايا البيوكيميائية) تنوعاً ملحوظاً: أشكال مختلفة (كروية، عصوية، 45 °C مكورة-عصوية)، تميزت أغلبية السلالات المعزولة بإيجابية الغرام (8 من أصل 10)، مع أنماط إنزيمية متنوعة. كما أن معظم السلالات كانت E3 إيجابية لاختبار الكاتالاز، في حين أظهرت نتائج متباينة في اختبارات الأوكسيداز، والأميلاز، والكازئيناز، والجيلاتيناز. أظهرت السلالات ، مع تحمل جيد لدرجات °C عدة أنشطة تحليلية، مما يشير إلى قدرة إنزيمية كبيرة. جميع السلالات أبدت نمواً أمثل بين 37 و 45 °C و E4 و E12 حموضة من الحمضي إلى القاعدي. علاوة على ذلك، أظهرت السلالات قدرة معتدلة على تحمل الملوحة، حيث تأقلمت مع تراكيز متزايدة من *Geobacillus*، مما يدل على قدرتها على التكيف مع الظروف البيئية القاسية. أظهر التحليل التصنيفي وجود ستة أجناس بكتيرية NaCl تبرز هذه النتائج الإمكانيات البيوتكنولوجية لهذه *Anoxybacillus*، *Staphylococcus*، *Pseudomonas*، *Thermus*، و *Acinetobacter*، و تنقية الإنزيمات، ودراسة الخصائص المضادة للميكروبات. rARN 16S السلالات البكتيرية، وتفتح آفاقاً لبحوث مستقبلية تشمل تسلسل جين

**الكلمات المفتاحية :** المياه الحارة، منبع حمام تمرسيت، بكتيريا محبة للحرارة، الإمكانيات البيوتكنولوجية، التوصيف

الظاهري .