REPUBLIQUEALGERIENNEDEMOCRATIQUEET POPULAIRE

MINISTEREDEL'ENSEIGNEMENTSUPERIEUREETDELARECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITEDE MEDEA

FACULTEDES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **Master**

En Science Biologique

Spécialité: Microbiologie Appliquées

Par :

Arroussi Manar **Okacha Aicha**

Thème :

Évaluation de l'activité antimicrobienne et de la capacité de synthèse des biosurfactants de quelques souches thermophiles.

Soutenue publiquement le : 02 /07/2025, Devant le jury composé de :

HAMZA Imane	**Grade** MCA	U.Médéa	Président
BOUMEDIENE Farida	**Grade** MCB	U. Médéa	Examinateur
HOUCEINI Amina	**Grade MCB**	U.Médéa	Encadreur

Année universitaire 2024/2025

Remerciement

Au terme de ce travail, nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.
Avant tout, nous remercions Allah, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la patience, la force et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce projet.

Nous adressons nos sincères remerciements à ***Madame Houceini Amina****, notre promotrice, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité et ses conseils précieux tout au long de ce travail. Sa bienveillance et son expertise ont été d'un soutien inestimable*

Nous remercions également Mm ***HAMZA Imane*** *d'avoir Accepté la présidence du jury de notre travail, c'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous.*

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers Mm ***BOUMEDIENE Farida*** *d'avoir accepté d'examiner notre mémoire. Nous aimerions exprimer notre gratitude et nos remerciements à tous les membres de jury.*

Un merci tout particulier à tous les membres de l'administration et les Enseignantes de département de science de la nature et de la vie qui ont participé le long de ces 5 années à notre formation et pour leurs très grands dévouements.
Nos remerciements vont aussi à tous les membres de l'équipe de laboratoire de la faculté de Science Biologique,

Ce travail est le fruit d'un véritable effort collectif, et nous espérons qu'il saura répondre aux attentes de chacun.

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à la personne la plus précieuse de ma vie**, ma mère**, celle qui a toujours cru en moi, même quand moi je doutais. Ton amour inconditionnel, tes sacrifices silencieux, et ton soutien sans relâche sont les vraies raisons de ce que je suis aujourd'hui. Tu es mon modèle, mon refuge, et mon éternelle source de force. Qu'Allah te protège et te récompense pour tout ce que tu fais pour nous.*

***À mon père**, ce héros discret au cœur immense. Ta patience, tes efforts inlassables et tes mots pleins de sagesse m'ont guidée dans les moments les plus durs. Merci pour ta présence rassurante, ton soutien solide et ton amour sincère.*

***À mon frère Walid**, pour son aide précieuse, ses encouragements constants, et sa générosité de cœur. Tu as été là dans les moments où j'en avais le plus besoin, et je ne l'oublierai jamais.*

*À mes chères sœurs **Soumia** et **Amel**, et au petit ange de la maison, **Abdenour**, qui remplit nos cœurs de joie.*

***À ma grand-mère,** cette femme au cœur pur et à la foi inébranlable. Ta douceur, tes prières et ton amour m'ont toujours accompagnée, même à distance. Tu es un pilier de ma vie et une bénédiction dans notre famille.*

***À mes tantes,** pour leur bienveillance et leur affection.*

***À ma binôme Manar**, une personne au grand cœur, une amie fidèle et une partenaire exceptionnelle. Ta présence constante, ta bonne humeur et ton sérieux ont fait toute la différence. Merci d'avoir été là, chaque jour, avec moi dans ce chemin parfois difficile mais inoubliable. Ce mémoire, c'est aussi un peu le tien.*

*Et enfin, à mes deux amies chères **Chaïma** et **Masseuda**, pour leur soutien sincère, leur énergie positive et leur amitié authentique.*

Merci à vous tous. Ce travail est le reflet de votre amour et de votre présence dans ma vie.



Aïcha

Dédicaces

À ma chère maman, *qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ses sacrifices et privations ne l'ont pas empêchée d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.*

À mon cher papa*, qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant. Sa chaleur paternelle a été, et restera toujours pour moi, un grand réconfort.*

À mes sœurs Ikram et Rahef, *ainsi qu'à mes frères* ***Lakhdar****,* ***Youcef*** *et* ***Idriss****, qui ont toujours été à mes côtés et ne m'ont jamais laissé(e) tomber. Merci pour votre soutien constant et vos encouragements inestimables. Jamais de simples mots ne suffiront à exprimer toute ma reconnaissance.*

À mon cousin Islem*, qui est bien plus qu'un cousin : un véritable frère pour moi.*

A mes oncles et mes tantes *pour votre amour et votre soutien .*

À ma grande famille*, petits et grands, merci pour votre amour et votre présence.*

À ma binôme et sœur de cœur, Aïcha*, ma ravissante âme sœur, mon pilier, ma complice, je veux te dire combien ta présence a été précieuse. Merci pour ta patience infinie, ton soutien sans faille, tes efforts partagés et ces moments empreints de complicité, de joie et d'émerveillement. Ton amitié est un trésor rare.*

À mes chères copines *:* ***Aïcha, Meriem et Naïma****, pour votre soutien et vos encouragements et votre fidélité sont un cadeau inestimable.*

À mes ami(e)s de la promotion *:* ***Messouda et Chaïma,*** *merci pour votre belle complicité et votre fiabilité et pour les belle souvenir.*

Je dédie ce parcours à vous tous, qui avez été mon refuge, ma force et mon inspiration. Merci d'avoir contribué à chaque étape de cette aventure ; sans vous, rien n'aurait été possible. Du fond du cœur, merci à chacune ET chacun.



MANAR

Résumé

Les bactéries thermophiles sont des micro-organismes qui peuvent survivre à des températures hautes, comprises entre 45 °C et 80 °C. Possèdent un grand potentiel en domaine de biotechnologie. Ce projet a permis d'isoler 29 souches thermophiles provenant de diverses sources thermales naturelles en Algérie. Ces souches, recueillies lors de campagnes d'échantillonnage, ont d'abord fait la revivification en laboratoire pour stimuler leur croissance. Par la suite, ces dernières ont été passées l'identification phénotypique, comprenant des observations à l'échelle macroscopique et microscopique, ce qui a permis de différencier les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Par la suite, une évaluation de leur pouvoir antimicrobien a été effectuée par la technique de cylindre d'agar en les confrontant à des souches bactériennes et fongiques de référence, y compris Escherichia coli, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* pour le groupe des bactéries, ainsi que *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis* pour le groupe des champignons. De plus, des tests spécifiques ont été réalisés pour mesurer la capacité de ces souches à produire des biosurfactants. Diverses méthodes de criblage (émulsification, essai de déplacement d'huile) ont été utilisées. De plus, un test de confirmation a été effectué en utilisant la gélose au sang, ce qui a permis de noter une hémolyse entourant les colonies. À la fin, on a fait l'extraction des biosurfactants par précipitation acide. Les résultats montrent que la plupart des souches sont de Gram-positives. Pour l'activité antimicrobienne : 8 souches présentent une activité contre *E. coli*, 14 souches contre *P. aeruginosa* et 3 souches contre *B. subtilis*. En ce qui concerne l'activité antifongique, une souche spécifique a démontré une action notable contre *Aspergillus brasiliensis*. Sur 13 souches testées, 7 se sont révélées positives. On considère ce phénomène comme un indicateur indirect mais significatif de la présence d'une activité biosurfactant importante.

Cela souligne leur potentiel d'application biotechnologique dans les secteurs de la santé, de l'environnement et de l'industrie.

Des études ont démontré l'activité antimicrobienne et la production de biosurfactants chez certaines souches thermophiles, indiquant une association potentielle entre ces deux phénomènes.

Les Mots clés : Activité antimicrobienne, Biosurfactants, test hémolyse, test de déplacement, Indice d'émulsification.

ملخص

البكتيريا الحرارية هي كائنات دقيقة يمكنها البقاء على قيد الحياة في درجات حرارة عالية تتراوح بين 45 ؤ 80 درجة سلالة حرارية مصدرها مصادر حرارية 29 تمتلك إمكانيات كبيرة في مجال التكنولوجيا الحيوية. سمح هذا المشروع بعزل طبيعية متنوعة في الجزائر. هذه السلالات، التي جُمعت خلال حملات جمع العينات، تم إحياؤها أولاً في المختبر لتحفيز نموها. بعد ذلك، خضعت للتعريف الفينوتيبي، والذي شمل ملاحظات على المستوى الماكروسكوبي والميكروسكوبي، مما بعد ذلك، تم تقييم نشاطها المضاد للميكروبات بواسطة تقنية .سمح بالتمييز بين البكتيريا إيجابية الجرام وسالبة الجرام ، *Escherichia coli* أسطوانة الأجار، حيث تم اختبارها ضد سلالات بكتيرية وفطرية مرجعية، بما في ذلك لمجموعة البكتيريا، وكذلك *Bacillus subtilis*، و*Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus* بالإضافة إلى ذلك، أُجريت اختبارات محددة .لمجموعة الفطريات *Aspergillus brasiliensis* و*Candida albicans* لقياس قدرة هذه السلالات على إنتاج البيوسفركتان. تم استخدام طرق فحص مختلفة (الاستحلاب، اختبار إزاحة الزيت). كما تم إجراء اختبار تأكيد باستخدام أجار الدم، مما أتاح ملاحظة تحلل الدم المحيط بالمستعمرات. في النهاية، تم استخلاص تُظهر النتائج أن معظم السلالات إيجابية الجرام. فيما يخص النشاط المضاد .البيوسفركتان عن طريق الترسيب الحمضي *B. subtilis*. ، و3 سلالات ضد*P. aeruginosa* ، و14 سلالة ضد*E. coli* للميكروبات: أظهرت 8 سلالات نشاطًا ضد *Aspergillus brasiliensis*. أما بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات، فقد أظهرت سلالة واحدة محددة تأثيرًا ملحوظًا ضد من بين 13 سلالة تم اختبارها، كانت 7 إيجابية. يُعتبر هذا الظاهرة مؤشرًا غير مباشر ولكن مهم على وجود نشاط هذا يبرز إمكانيات تطبيقها في التكنولوجيا الحيوية في مجالات الصحة والبيئة والصناعة. أظهرت .بيوسفركتان هام الدراسات النشاط المضاد للميكروبات وإنتاج البيوسفركتان لدى بعض السلالات الحرارية، مما يشير إلى وجود ارتباط .محتمل بين هذين الظاهرتين

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للميكروبات، البيوسفركتان، اختبار تحلل الدم، اختبار إزاحة الزيت، مؤشر .الاستحلاب،

Abstract

Thermophilic bacteria are microorganisms that can survive at high temperatures, ranging between 45 °C and 80 °C. They have great potential in the field of biotechnology. This project allowed the isolation of 29 thermophilic strains originating from various natural thermal sources in Algeria. These strains, collected during sampling campaigns, were first revived in the laboratory to stimulate their growth. Afterwards, they underwent phenotypic identification, including macroscopic and microscopic observations, which made it possible to differentiate Gram-positive and Gram-negative bacteria. Then, an evaluation of their antimicrobial activity was performed by the agar cylinder technique by confronting them with reference bacterial and fungal strains, including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus subtilis* for the bacterial group, as well as *Candida albicans* and *Aspergillus brasiliensis* for the fungal group. Moreover, specific tests were conducted to measure the capacity of these strains to produce biosurfactants. Various screening methods (emulsification, oil displacement assay) were used. Additionally, a confirmation test was carried out using blood agar, which made it possible to note hemolysis surrounding the colonies. At the end, the biosurfactants were extracted by acid precipitation. The results show that most of the strains are Gram-positive. Regarding antimicrobial activity: 8 strains showed activity against *E. coli*, 14 strains against *P. aeruginosa*, and 3 strains against B. subtilis. Concerning antifungal activity, one specific strain demonstrated a notable action against *Aspergillus brasiliensis*. Among 13 strains tested, 7 were positive. This phenomenon is considered an indirect but significant indicator of the presence of important biosurfactant activity. This highlights their biotechnological application potential in the fields of health, environment, and industry. Studies have demonstrated antimicrobial activity and biosurfactant production in some thermophilic strains, indicating a potential association between these two phenomena.

Keywords: Antimicrobial activity, Biosurfactants, Hemolysis test, Oil displacement test, Emulsification index.

TABLE DES MATIERES

Table des matières :

Listes des tableaux

Listes des figures

Listes des abréviations

Introduction générale

CHAPITRE I:revue bibliographique.

Partie 01:les sources thermales et thermophiles.

I.1.1 Introduction……..…….03

I.1.2 Le mode des extrémophiles……..03

I.1.3 les micro-organismes thermophiles …….05

I.1.3.1 Exigence nutritionnelles des thermophiles……05

I.1.3.2 Les sources thermales en Algérie: ……06

I.1.4 La niche écologique des thermophiles : 07

I.1.4.1 Les biotopes naturels 07

I.1.4.1.1 Biotopes terrestres.....07

I.1.4.1.2 Biotopes marins 07

I.1.4.2 Les Biotopes artificiels 08

I.1.5 Adaptations moléculaires à la thermophile……09

I.1.5.1Thermostabilité des protéines.....09

I.1.5.2Thermostabilité des lipides membranaires.....09

I.1.5.3 Thermostabilité des acides nucléiques (ADN, ARN).....10.

I.1.6Les avantages des thermophiles ……10

Partie 02 : Activité Antimicrobienne.

I.2.1Agent antimicrobien……..11

I.2.2 Mécanisme d'action ……11

I.2.3L'activité antimicrobienne des thermophiles ……12

Partie03 : Les biosurfactants.

I.3.1Définition……...14

I.3.2Composition et structure chimique.....14

I.3.3Classification des biosurfactants.....15

I.3.4Microorganismes producteurs de biosurfactants.....15

I.3.5 Facteurs influences la production du biosurfactants……16

I.3.6Propriétés physicochimique des biosurfactants.....18

I.3.6.1 Diminution de la tension superficielle ….18

I.3.6.2Concentration Micellaire Critique (CMC) 18

I.3.6.3 Emulsification……19

I.3.6.4 Tolérance aux conditions extrêmes de température, PH et de salinité……..19

I.3.6.5 Faible toxicité.....20

I.3.6.6 Biodégradabilité.....20

I.3.7 Application des biosurfactants……..20

I.3.8Les biosurfactants des bactéries thermophiles.....21

I.3.9 Avantages des biosurfactants.....21

I.3.10Inconvénients des biosurfactants.....22

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHDES

II.1Matériel

II.1.1 Verrerie……23

II.1.2 Appareillage ……...23

II.1.3 Milieux culture.....23

II.1.4 Autres produits consommables.....23

II.1.5 Autres matériel ……23

II.2 Méthode

II.2.1 Période et lieu d'étude ……23

II.2.2 Objectifs d'étude.....24

II.2.3 revivification et identification des souches……24

II.2.3.1 Enrichissement et ensemencement ……..24

II.2.4 Identification phénotypique des souches ……25

II.2.5 Recherche des activités antimicrobiennes sur milieu solide (technique des cylindres d'agar…….26

II.2.6 La production des biosurfactants. ……26

II.2.6.1 Sélection des souches productrices de biosurfactant ……26

II.2.6.2 Préparation de préculture…….....27

II.2.6.3 Préparation de culture ……27

II.2.6.4 les tests de production des biosurfactants ……27

II.2.6.5 Extraction des biosurfactant…….……..29

CHAPITRE III : RESULTATS ET DUSCUSION.

III.1 Isolement et identification des souches ……..……..30

III.1.1 Observation macroscopique ……..30

III.1.2 Observation microscopique ……32

III.2 L'activité antimicrobienne ……..35

III.3.Production de biosurfactants par des souches thermophile……39

III.3.1. L'effet de l'indice d'émulsification…….…….39

III .3.2.L'effet de test de déplacement de l'huile de moteur……..41

III.3.3 :L'effet de test d'hémolyse…….43

III.3.4 :L'extraction des biosurfactants……46

Conclusion……48

LISTES DES TABLEAUX, FIGURES ET ABREVIATION.

Listes des tableaux

Tableau I.1.1 : Principaux types d'extrémophiles et extrémotolérants.

Tableau I.3.1 : Différents domaines d'application des biosurfactants.

Tableau III.1 : Observation morphologique des colonies et des cellules bactériennes.

Tableau III.2 : Résultats de coloration de Gram.

Tableau III.3 : Résultats de l'activité antimicrobienne des souches thermophiles contre les souches de références (bactéries et champignons).

Tableau III.4 : Les mesures de diamètre de la zone claire après 30s et 24h**.**

Tableau III.5 : Résultats de test d'hémolyse.

Listes des figures

Figure I.1.1 : les stations thermales en Algérie.

Figure I.1.2 : Les Biotopes marin.

FigureI.3.1 : Structure chimique de quelques biosurfactants commus.

Figure I.3.2 : Variations de la tension superficielle et la formation des micelles en fonction de la concentration en surfactant.

Figure II.1 : Schéma récapitulatif du test d'émulsion (E24).

Figure III.1 :L'aspect macroscopique des souches thermophiles.

Figure III.2: Laspect microscopique des souches thermophiles (résultats de coloration de Gram).

Figure III.3 : L'activité antimicrobienne des souches thermophiles contre les souches tests.

Figure III.4 : les résultats de test d'émulsification.

Figure III.5 : présentation du pourcentage de l'indice d'émulsification chez les différentes souches sélectionnées productrices de biosurfactants.

Figure III.6 : Les résultats de test de déplacement après 30s et 24h.

Figure III.7 : Résultats de test d'hémolyse.

Figure III.8 : Résultats de l'extraction des biosurfactants.

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ARN : Acide Ribonucléique.

ATP : Adénosine triphosphate.

B.N : Bouillon Nutritif.

CMC : Concentration Micellaire Critique.

°C : Degré Celsius.

D.O : Densité Optique

E24 : Activité Émulsifiante.

H : Heur.

LB : Luria Bertan.

Max: Maximal.

MH: Muller Hinton.

Min : Minimale.

MIN: minute

MM : Milieu Minimum.

Na Cl : Chlorure de sodium.

Na2CO: Carbonate de sodium.

PH : potentiel d'hydrogène.

T : Température..

TTM: Thermus thermophilus medium.

TS: Tension de Surface

UFC: Ultimate Fighting Championship.

150tr /min : Tour par minute.

Introduction Générale

INTRODUCTION Générale

La révélation de communautés microbiennes dans des habitats précédemment jugés stériles a démontré que les critères physico-chimiques favorisant l'émergence de la vie sont bien plus étendus que ce qu'on pensait. Les entités désignées comme extrémophiles ne se limitent pas à tolérer des conditions extrêmes, elles prospèrent dans ces environnements favorables à leur développement **(Franzetti., 2019).**

On a identifié que les sources thermales constituent un environnement naturel propice à la colonisation par des bactéries thermophiles. Ces micro-organismes ont évolué de manière exceptionnelle pour s'adapter à des températures extrêmes. La diversité de ces environnements est liée aux spécificités géologiques et aux propriétés physico-chimiques, y compris les variations de température (**Pandey et *al.*,2015).** L'Algérie abrite de nombreuses sources naturelles d'eaux chaudes, souvent localisées dans des régions montagneuses ou près de zones volcaniques, offrant ainsi un décor splendide pour profiter de leurs vertus curatives.
Desai et Banat, (1997), les biosurfactants, grâce à leurs propriétés de surface, sont considérés comme d'excellents dispersants, émulsifiants, agents moussants et agents mouillants prometteurs. Ces caractéristiques les rendent utiles dans divers secteurs industriels (**Muthusamy et *al.*, 2008).** Tels que l'industrie alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, agricole et chimique. (**Banat, Franzetti et *al.*,2010).**

Octarya et *al.*,*(*2022), les bactéries thermophiles, qui sont une source de composés bioactifs présentant de multiples bénéfices pour l'être humain, sont également la provenance d'antimicrobiens. Étant donné que les agents pathogènes microbiens persistent à évoluer et à développer une résistance aux antibiotiques, la nécessité de découvrir et de développer de nouveaux composés antimicrobiens efficaces a été de plus en plus sollicitée (**Alrumman et *al.*,2018).**

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antimicrobienne ainsi que le pouvoir de production de biosurfactants de certaines souches thermophiles isolées à partir de trois sources hydrothermales en Algérie. Pour cela, nous avons adopté le plan suivant :

- La première section bibliographique rassemble les théories fondamentales associées à notre sujet.

- une deuxième section expérimentale qui inclut : Un chapitre détaille tous les matériels et méthodes utilisés pour l'enrichissement, l'identification et la caractérisation des bactéries thermophiles, ainsi que la détermination de la production de biosurfactants et leur action antimicrobienne. Le deuxième chapitre, qui traite de l'examen des résultats obtenus et de leur analyse, se termine par une conclusion globale tout en exposant certaines perspectives pour cette étude actuelle.

Chapitre I

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

Partie 01

Les sources Thermales Et

Thermophiles

I.1.1.Introduction:

Les micro-organismes occupent une place essentielle dans le monde vivant. Certains sont capables de survivre dans des conditions extrêmes, d'autres possèdent des propriétés étonnantes qui ouvrent la voie à des applications innovantes, notamment dans les domaines médical, industriel, agricole ou environnemental, ce qui a attiré l'attention des chercheurs depuis plusieurs années.

I.1.2.les extrémophiles :

Depuis la découverte des microorganismes extrêmophiles, les Archaea sont celles qui ont été le plus souvent identifiées dans des environnements extrêmes, généralement en association avec des sources thermales (**Woese et *al.*,1994).** Durant cette période, de nombreux chercheurs présumaient que ces dernières étaient en outre propres à des écosystèmes défavorables. On considérait parfois que seuls les Archées pouvaient survivre dans de telles conditions. Toutefois, plusieurs recherches ont prouvé que des microorganismes sont également aptes à survivre dans des conditions extrêmes dans d'autres sphères de la vie (Bacteria et Eukarya) (**Weber et *al.*, 2004**).Par ailleurs, diverses recherches ont prouvé que les Archaea se retrouvent sans doute dans tous les écosystèmes de notre planète, tels que les lacs **(Auguet et Casamayor., 2008),** les rivières des zones tempérées, les océans, le sol et même le système digestif des animaux ruminants.

Les extrémophiles sont des organismes capables de vivre dans des conditions environnementales extrêmes telles que des températures élevées ou bas, un pH très acide ou basique, ainsi que des environnements salins ou soumis à des pressions élevées. Ces organismes produisent des enzymes et des substances très efficaces, ce qui les rend utiles dans des industries comme la fabrication de détergents, les produits alimentaires, les cosmétiques et les textiles.

Les organismes extrémophiles sont classés en fonction du paramètre physico-chimique auquel ils se sont adaptés dans une condition extrême. Par exemple, concernant la température, on peut observer des organismes hyperthermophiles, thermophiles et psychrophiles. Concernant le pH, on distingue des organismes qui prospèrent à un pH faible (basophiles), ou élevé (acidophiles). **(Detay et Thomas, 2018).**

Tableau I.1.1: Principaux types d'extrémophiles et extrémotolérants**:(Detay et Thomas, 2018).**

Type	**Caractéristique**
Thermophile	Chauds avec des optimums de croissance proche de 60 °C (sources chaudes).
Hyperthermophile	Très chauds avec des optimums de croissance proche de 90 °C à 115 °C. Ils peuvent se diviser dans un milieu d'eau portée à ébullition quand la pression n'est pas trop forte, (sources chaudes, geysers, solfatares, fumeurs…).
Acidophile	Acides avec un pH optimum de croissance proche de 3 (lacs de cratère, sources chaudes, solfatares, Dallol, mines et couches de sulfures…).
Alcalophile	Basiques avec un pH optimum de croissance proche de 9 et plus (lacs natrons, lacs riches en Na2CO, Dallol, sources chaudes alcalines …).
Halophile	Très salés, forte concentration en NaCl (lacs du rift Est-africain, salar d'Uyuni en Bolivie, Marais salants, sources sortant de couches d'évaporites, mines de sel, diapirs de sels…).
Psychrophile	Froids (abysses, calottes polaires, glaciers, inlandsis, neige, montagne, permafrost, et, de façon tout à fait artificielle, dans l'espace où ils peuvent résister au vide et aux radiations, mais pas s'y développer)
Piezophile	Soumis à des pressions élevées (fonds océaniques profonds jusqu'à – 11000 m : fosse des Mariannes), sous-sol profond…

I.1.3.Les microorganismes thermophiles :

Les thermophiles sont des micro-organismes capables de vivre et de se développer dans des environnements où la température est particulièrement élevée (**Sarmiento et *al.*,2015).**

Karl Stetter a proposé une définition plus pratique et élargie : il considère comme thermophiles tous les organismes capables de se reproduire à des températures supérieures à 45 °C.

Cette définition permet aussi de distinguer différentes catégories :

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

On retrouve ces micro-organismes dans des milieux naturellement chauds comme les sources hydrothermales des fonds marins ou les sources chaudes à la surface, souvent liées à une activité volcanique ou géothermique. Ils peuvent aussi être isolés de milieux artificiels où la température est élevée, comme les canalisations d'eau chaude ou certaines installations industrielles (**Alain et *al.*,2010).**

I.1.3.1 : Exigence nutritionnelles des thermophiles :

Les exigences nutritives des bactéries thermophiles diffèrent de celles des bactéries mésophiles.

Effectivement, divers auteurs ont souligné une demande spécifique en vitamines telles que :

- La thiamine (vitamine B1).
- La riboflavine (vitamine B2).
- Des acides aminés comme l'histidine et la méthionine.
- Du calcium et du magnésium pour favoriser ou permettre le développement des bactéries**.**

I.1.3.2 Les sources thermales en Algérie:

L'Algérie, le pays le plus grande de la région méditerranéenne et du nord de l'Afrique, possède un potentiel géothermique significatif, illustré par l'existence de multiples stations thermo-minérales disséminées sur tout son territoire. Ces sources thermales sont non seulement extrêmement nombreuses, mais également très riches en termes de composition chimique, surtout en ce qui concerne les minéraux **(Saibi., 2015).**

Effectivement, on a dénombré plus de 240 sources thermales. Elles sont dispersées partout dans le pays et leur quantité croît au fur et à mesure qu'on s'approche de la région Nord **(Saibi.,2015).**

Les stations les plus notables et prisées sont :

Hammam Meskhoutine (H. Debagh) et Hammam Guergour situées à l'est ; ainsi que Hammam Bouhanifia, Hammam Bouhadjar et Hammam Bougharara.

Parmi ces stations, celles qui se démarquent par leur popularité et leur importance sont : Hammam Meskhoutine (H. Debagh) et Hammam Guergour à l'est ; Hammam Bouhanifia, Hammam Bouhadjar, Hammam Bougharara et hammam Righa à l'ouest ; sans oublier Hammam Salihine au sud **(Fekraoui et Kedaid., 2005).**



Hammam Debagh



Hammam EssalIhine



Hammam Guergour

Figure I.1.1 : les stations thermales en Algérie.**(Fekraoui et Kedaid., 2005).**

I.1.4 : La niche écologique :

Les thermophiles vivent principalement dans des biotopes d'origine géothermique, généralement situés dans des zones tectoniques actives. Toutefois, on les retrouve également dans des environnements chauds artificiels, comme les systèmes thermiques **(Ferrera et Reysenbach., 2007),** ainsi que dans des milieux naturels chauds, notamment les sources hydrothermales terrestres **(Oshima et Moriya., 2008).**

I .1.4.1.Les biotopes naturels :

I.1.4.1.1 : Biotopes terrestres :

Dans les environnements terrestres, lorsque l'eau souterraine surchauffée approche de la surface, la pression diminue, entraînant une projection d'eau sous forme de jets ou de bulles d'eau chaude, connus sous le nom de geysers **(Ferrera et Reysenbach., 2007).**La composition de cette eau dépend principalement des roches qu'elle traverse et elle est souvent liée à une activité volcanique. La température de l'eau in situ varie selon la profondeur à laquelle elle circule. Les geysers sont caractérisés par l'émission de fluides fortement minéralisés ayant parcouru les couches profondes de la croûte terrestre avant de resurgir à la $surface à environ 100°C, avec des pH pouvant être acides ou basiques.

On retrouve ces phénomènes dans plusieurs régions du monde, notamment en Islande, en Algérie et dans le parc national de Yellowstone (**Grégoire et *al.*,2009).**Certaines sources chaudes affichent des fluctuations de température, tandis que d'autres restent remarquablemenrt stables, avec des variations ne dépassant pas 1 à 2°C sur plusieurs années. En outre, chaque

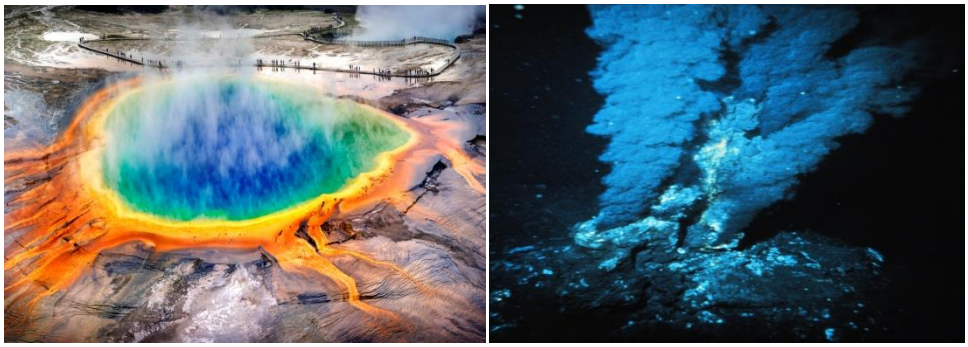
source peut présenter une composition chimique et un pH distinct. Quelle que soit leur nature, ces sources offrent des conditions propices au développement de communautés microbiennes abondantes, notamment des chimioorganotrophes et des chimiolithotrophes Hyperthermophiles **(Madigan et Martinko., 2007).**

I.1.4.1.2 : Biotopes marin :

L'eau de mer pénètre dans les fissures des fonds océaniques et se réchauffe au contact des roches basaltiques ou ultramafiques en fusion. Ce processus peut porter la température de

l'eau à des niveaux extrêmes, atteignant jusqu'à 400°C. Par d'autres fissures, cette eau surchauffée remonte ensuite vers la surface sous forme de fluide hydrothermal, riche en composés réduits tels que H_2S, CH_4 et NH_4^+, ainsi qu'en éléments métalliques tels que Mn^{2+}, Fe^{2+}, Li^+, Cd^{2+}, Cu^{2+} et Zn^{2+}.

Le contact de ce fluide chaud et toxique avec l'eau de mer froide (à environ 2°C) engendre la précipitation de sulfures métalliques et de sulfate de calcium anhydre. Ce phénomène est à l'origine des formations appelées « fumeurs » et « diffuseurs », qui contribuent progressivement à la construction des cheminées hydrothermales. C'est dans cette zone de mélange turbulent, où s'affrontent le fluide hydrothermal surchauffé et l'eau de mer oxygénée et froide, que se développe un écosystème unique. La vie hydrothermale prospère dans ces conditions extrêmes, défiant les contraintes de température, de pression et de toxicité (**Minic et *al.*,2006).**



A B

A : Source d'eau chaude, parc de Yellowstone. **B :** Fumeur noir dans l'océan Atlantique.

Figure I.1.2 : Les Biotopes marin.

I.1.4.2 : Biotope artificielle :

Les biotopes thermophiles artificiels comprennent le drainage minier acide et les liquides acides, les tas de compost auto-chauffants, les déchets biologiques et les usine de traitement des déchets. Ce sont des biotopes idéals pour isoler des thermophiles modérés et extrêmes, et dont la température est inférieure à celui des habitats naturels (**Mayouf et *al.*,2020).**Les thermophiles demeurent aussi dans les systèmes thermiques artificiels tels que les circuits

d'alimentation et les réservoirs d'eau chaude, les centrales nucléaires, les usines géothermiques, les puits et forages de pétroles, et les bioréacteurs **(Gomri., 2012).**

I. 1.5. Adaptations moléculaires au thermophile.

Les thermophiles sont capables de croître de manière optimale à des températures relativement plus élevées. Les modifications structurelles et fonctionnelles que subissent les microorganismes thermophiles pour se développer dans des environnements thermiques élevés sont à l'étude ces dernières années. Ce vaste domaine donne un aperçu de l'art d'adaptation de la vie lié aux températures élevées sur terre et au-delà. Des études ont montré les modifications de la membrane cellulaire, des protéines, des enzymes et de ces microbes pour s'adapter à de tels environnements hostiles et maintenir la fonction et l'intégrité de la cellule (**Swatilekha Pati et *al.* ,2023).**

I.1.5.1 : Protéines :

Les protéines issues des organismes thermophiles et hyper thermophiles présentent une plus grande thermostabilité comparativement à celles de leurs homologues mésophiles, et fonctionnent de manière optimale à des températures élevées (**Madigan et *al.*,2010).**Toutefois, il n'y a pas de principe universel qui puisse expliquer cette thermostabilité, chaque protéine suivant sa propre méthode de stabilisation. En général, la thermostabilité inhérente des protéines, et plus spécifiquement des enzymes, est souvent attribuée à de légers changements dans la séquence d'acides aminés qui favorisent le repliement compact de la protéine avec moins de cavités internes. De plus, un grand nombre de liaisons ioniques contribue à maintenir l'intégrité structurelle du tout et à résister à la dénaturation. La synthèse à grande échelle de solutés osmocompatibles aide aussi à préserver les protéines contre la dégradation thermique (**Santos et *al.*,2011).**

I.1.5.2 : Lipides :

La structure unique des membranes cytoplasmiques des microorganismes thermophiles leur confère une stabilité et une fonctionnalité même à des températures élevées. Les membranes des bactéries hyperthermophiles se composent d'une double couche lipidique constituée d'acides gras associés à un glycérol par une liaison ester, et présentent une richesse exceptionnelle en acides gras saturés.

L'abondance d'acides gras saturés contribue à élever le point de fusion de la membrane tout en garantissant une stabilité et une fluidité idéales dans des conditions de thermophile (**Alain et *al.*,2010).**

Ⅰ.1.5.3 : Acides nucléiques :

Les nucléotides, qui possèdent soit une base purique, soit une base pyrimidique, constituent les composants fondamentaux des molécules d'acides nucléiques. Il est supposé que la concentration élevée en GC dans des zones précises (la boucle de tige) assure une stabilité accrue à l'ADN bicaténaire, car l'adénine s'attache à la thymine par deux ponts hydrogène tandis que la cytosine et la guanine le font par trois ponts hydrogène. (**Vavitsas et *al*.,2022),** ce processus pourrait constituer le principal système de défense contre la dénaturation de l'ADN chez les organismes extrêmophiles. Un taux accru de GC dans la région double brin de la tige garantit aussi une stabilité thermique des molécules d'ARN (**Mehta et *al.*,2016).**

Les archées hyper thermophiles possèdent une enzyme spécifique d'ADN topoisomérase de type I, la gyrase inverse. Cette enzyme insère des super-tours positifs dans l'ADN en utilisant de l'ATP, ce qui aide à stabiliser la double hélice de l'ADN et protège sa structure contre la dénaturation thermique. À ce jour, cette enzyme a été identifiée chez les microorganismes extrêmes et Hyperthermophiles étudiés, qui appartiennent soit au domaine archéen, soit au domaine bactérien, et ont une température de croissance optimale supérieure à 75°C **(Forterre et Bergerat., 1996).**

I.1.7 : les avantages des thermophiles :

Les micro-organismes thermophiles ont suscité beaucoup d'intérêt dans le domaine de la biotechnologie **(Bouchée., 2016)** parmi les avantages de l'utilisation de bactéries thermophiles sont :

- Inactivation ou élimination des micro-organismes contaminants / pathogène mésophiles.
- Production de macromolécules et métabolites thermostables.
- Facilité de récupération des produits catalysent **(Krahet et *al.*,1996 ; Kumar., 2001).**
- Récupération directe des produits volatils.
- Capacité de production des substances bioactives comme les enzymes (**Aanniz et *al.*, 2015).**

PARTIE 02

ACTIVITE

ANTIMICROBIENNE

I.2.1. Agent antimicrobien

Le terme antimicrobien se réfère majoritairement aux antibiotiques, agents antibactériens, antifongiques, antiviraux et antiprotozoaires. Il s'agit de médicaments, de produits chimiques ou d'autres substances capables d'agir de deux manières : soit en tuant les micro-organismes (microbicides), soit en ralentissant leur croissance (inhibition microbienne). **(Asif, 2017).**

Les agents antimicrobiens sont fréquemment employés pour soigner et prévenir les maladies chez l'homme et les animaux, mais aussi dans le secteur agricole pour favoriser la croissance. Quand des micro-organismes sont exposés à une substance toxique, leur élimination n'est ni immédiate, ni complète. Au fur et à mesure que l'agent antimicrobien agit, sa puissance se réduit progressivement jusqu'à ce qu'elle devienne inexistante, et cela avant que tous les microorganismes aient été éliminés. En effet, ce sont les survivants qui auront la possibilité de développer des mécanismes de résistance**. (Derfalou, 2020)**

Salvarsan, le premier agent antimicrobien de l'histoire, était un traitement contre la syphilis développé par **Ehrlich en 1910**. Les sulfamides, qui sont des composés synthétiques, ont été élaborés par Domagk et d'autres chercheurs en 1953. Cependant, leur utilisation présente des limites en matière de sécurité et d'efficacité. En 1928, Fleming a mis au jour la pénicilline. Il a observé que la croissance du *staphylococcus aureus* était entravée dans une zone autour d'une moisissure bleue contaminée (un champignon du genre Penicillium) dans des plaques de culture, ce qui l'a conduit à découvrir qu'un micro-organisme pouvait produire des substances capables d'inhiber la prolifération d'autres micro-organismes **(ópez-Velandia et *al.*,2018).**

I.2.1.1 Mécanisme d’action

Les agents antimicrobiens non antibiotiques exercent leurs effets par divers mécanismes, ciblant principalement la membrane cellulaire, les protéines et l’ADN des micro-organismes. Parmi eux, les agents oxydants comme le peroxyde d’hydrogène et le chlore produisent des espèces réactives de l’oxygène (ROS) qui endommagent irréversiblement les lipides membranaires, les acides nucléiques et les protéines, conduisant à la mort cellulaire **(McDonnell et Russell, 1999).**

Les ammoniums quaternaires, tels que le chlorure de benzalkonium, interagissent électrostatiquement avec la membrane cytoplasmique, provoquant une déstabilisation

membranaire et une fuite du contenu intracellulaire **(Gilbert et Moore, 2005).** Les aldéhydes, comme le glutaraldéhyde, réagissent avec les groupes amines des protéines et des acides nucléiques, formant des pontages covalents qui perturbent les fonctions cellulaires vitales **(Fraise, 2002).** À faibles concentrations, certains agents comme le triclosan inhibent des enzymes clés dans la synthèse des acides gras, ce qui arrête la croissance microbienne sans la tuer directement **(McMurry et al., 1998).**

Selon **M.R.J. Salton (1968),** l'action des agents antimicrobiens peut être décrite en cinq phases principales :

1. L'adsorption se produit sur la cellule, suivie d'une infiltration dans la paroi.

2. Réactions complexes impliquant la membrane cytoplasmique qui mènent à sa désorganisation.

3. Libération des éléments de faible poids moléculaire du cytoplasme.

4. Détérioration des protéines et des acides nucléiques.

5. Lyse de la paroi due aux enzymes autolytiques.

I.2.1.2. L'activité antimicrobienne des thermophiles

Les thermophiles sont des micro-organismes qui se développent à des températures élevées, généralement entre 45°C et 80°C, voire plus. Plusieurs éléments clés peuvent expliquer leur capacité à agir contre les microbes :

Production de métabolites secondaires, Protéines antimicrobiennes, Concurrence pour les ressources, Mécanismes de résistance et génétique.

Exemples précis d'antimicrobiens générés par les thermophiles :

Thermocidines: Une forme de peptide antimicrobien générée par certaines espèces thermophiles.

Bactériocines : Protéines générées par des bactéries thermophiles ayant la capacité de tuer ou de freiner la prolifération d'autres bactéries.

Antibiotiques naturels : Certains organismes thermophiles ont la capacité de produire des antibiotiques uniques qui ne sont pas présents chez les mésophiles.

Partie 03 :

Les biosurfactants :

I.3.1.Définition :

Les surfactants, ou agents tensioactifs (surface active Agents), peuvent être synthétisés chimiquement ou biologiquement (biosurfactants). Ces molécules à haute énergie se dispersent à l'interface entre des liquides non miscibles, diminuant de ce fait l'énergie libre du système et générant des microémulsions de solutions aqueuses ou des combinaisons d'hydrocarbures. Les biosurfactants sont des composés amphiphiles, ce qui signifie qu'ils possèdent une partie hydrophile (tête) et une partie hydrophobe (queue) **(Neu., 1996).** Ils ont la capacité de réduire la tension interfaciale en s'adsorbant à l'interface de deux substances immiscibles, qu'elles soient solides-liquides, liquides-liquides ou gaz-liquide **(Laha et *al.*,2009; Luna et *al.*, 2013 ; Volkering et *al.*, 1997).**

I .3.2. Classification :

La classification des biosurfactants se fait en fonction de la nature biochimique du surfactant généré par le micro-organisme. Selon **Healy et *al.*,(1996),**on peut classer les biosurfactants en cinq catégories principales : les glycolipides, les lipopeptides, les phospholipides, les liposaccharides et les lipides neutres.

Les glycolipides : sont formés de sucres en association avec une longue chaîne d'acides aliphatique ou d'acides hydroxylipidiques. Les rhamnolipides, les trahalolipides et les sophorolipides sont les glycolipides qui ont été le plus étudiés **(Ron et Rosenberg., 2002)**

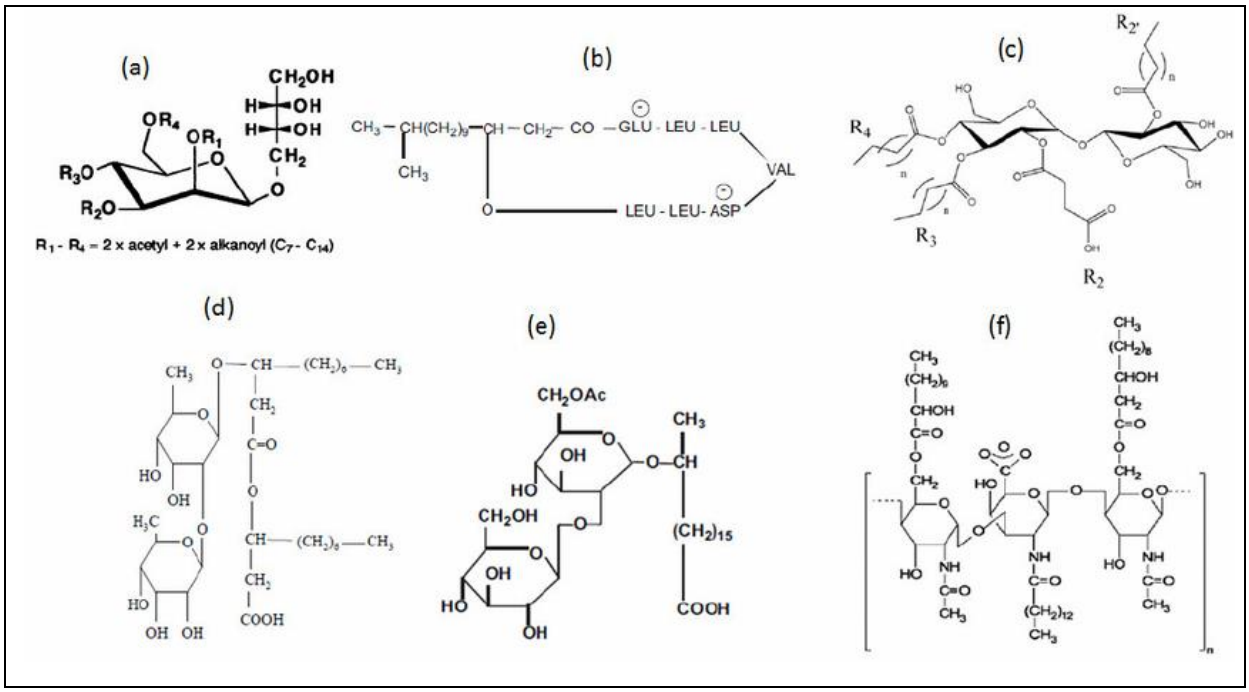
Les lipopeptides : sont constitués d'un lipide lié à une chaîne polypeptidique. Les lipides à base d'ornithine sont les plus réputés (**Healy et *al.*, 1996).**

Les phospholipides : ils sont constitués de groupements alcools, phosphates et de chaînes lipidiques. D'après **Bognolo (1999),**malgré leur présence dans tous les micro-organismes, il y a peu d'exemples de production extracellulaire.

Les lipopolysaccharides ou polymères : ils sont composés d'une ou plusieurs unités de saccharides et d'acides gras **(Healy et *al.*, 1996).**

Les acides gras et lipides neutres : Ce sont les biosurfactants qui ont la plus grande masse molaire **(Healy et *al.*, 1996).**En raison de leur importante production et de leurs propriétés

tensioactives, les biosurfactants les plus courants et étudiés sont les glycolipides et les phospholipides (**Desai et Banat., 1997).**



FigureI.3.1 Structure chimique de quelques biosurfactants commus **(Fakruddin .,2012).**

(a) Mannosylérythritol lipide (b) Surfactine (c) tréhalose lipide

(d) Sophorolipide (e) Rhamnolipide (f) Émulsane

I .3.4. Microorganismes producteurs de biosurfactants :

Les microorganismes qui produisent des biosurfactants se multiplient de façon aérobie dans un environnement aqueux renfermant une ou plusieurs sources de carbone, telles que les hydrates de carbone, les huiles ou les hydrocarbures **(Bognolo., 1999 ; Mulligan et *al.*,2001).** La composition et les propriétés d'un biosurfactant sont influencées par les conditions de culture, la source de carbone employée et le genre de microorganisme. Il est courant d'obtenir un bon rendement en utilisant un substrat qui n'est pas soluble. En général, ces entités sont des levures, des champignons ou des bactéries. Il est aussi possible pour les plantes, les animaux ou les êtres humains d'en produire **(Christofi et Ivshina., 2002).**

De nombreux micro-organismes, comme les champignons, les levures et les bactéries, se nourrissent de matières qui ne se mélangent pas à l'eau. Générant et employant une matière tensioactive (biosurfactant). Le genre *Pseudomonas,* parmi les bactéries, est réputé pour sa faculté à générer d'importantes quantités de glycolipides.Ces biosurfactants sont catégorisés en tant que rhamnolipides. Le *Bacillus subtilis* constitue un autre microorganisme qui a fait l'objet de nombreuses études en ce qui concerne la production de biosurfactants. Afin de synthétiser un lipopeptide présentant une activité de surface dénommée surfactine ou subtilisine. *Candida bombicola* et *Candida lipolytica* figurent parmi les levures les plus largement examinées en ce qui concerne la production de biosurfactants. Bien que de nombreuses espèces soient capables de produire des biosurfactants, la régulation de leur synthèse demeure encore mal comprise, à l'exception des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Bacillus subtilis,* qui constituent actuellement les bactéries les plus intensément étudiées (**Banat et *al.*, 2000).**

I.3.5. Facteurs influences la production du biosurfactants :

Facteurs déterminants dans la production de biosurfactants La composition et le pouvoir émulsifiant du biosurfactant sont influencés non seulement par la souche productrice, mais également par les conditions de culture. Par conséquent, des éléments comme le type de source de carbone, la source d'azote, le ratio C:N, les contraintes nutritionnelles ainsi que les paramètres chimiques et physiques tels que la température, l'aération, les cations divalents et le pH ont un impact à la fois sur la quantité et la qualité du biosurfactant produit (**Salihu,Abdulkadir et *al.*, 2009).**

I.3.5.1. source de carbone

La nature du substrat carboné a un impact sur la qualité et le volume de biosurfactant produit **(Rahman et Gakpe., 2008).**Selon **Desai et Banat (1997),**le diesel, le pétrole brut, le glucose, le saccharose et le glycérol sont identifiés comme d'excellentes sources de substrats carbonés pour la fabrication de biosurfactants.

I.3.5.2. source d'azote

L'azote joue un rôle crucial dans l'environnement de production du biosurfactants, étant donné qu'il est indispensable à la multiplication microbienne, car il est nécessaire pour la fabrication

des protéines et des enzymes. Pour la fabrication de biosurfactants, divers composés azotés ont été employés, comme l'urée, la peptone, l'extrait de levure, le sulfate d'ammonium, le nitrate d'ammonium, le nitrate, le nitrate de sodium, l'extrait de viande et les extraits de malt. Bien que la levure soit la source d'azote la plus couramment utilisée pour produire des biosurfactants, sa concentration optimale varie en fonction de l'organisme et du milieu de culture. Arthrobacterparaffineus préfère les sels d'ammonium et l'urée comme sources d'azote pour la production de biosurfactants, tandis que le nitrate stimule une production maximale de tensioactifs chez pmaeruginosa **(Adamczak et Bednarski., 2000).**

I.3.5.3. facteurs environnementaux

Ils jouent un rôle crucial dans la performance et les propriétés du biosurfactant fabriqué. Pour produire de grandes quantités de biosurfactants, l'optimisation du bioprocédé est toujours indispensable, car divers facteurs tels que la température, l'humidité, le pH, l'aération ou la vitesse d'agitation peuvent influencer le produit. La majorité des biosurfactants sont produits à des températures variant de 25 à 300 °C **(Desai et Banat., 1997).**L'étude menée par Zinjarde et Pant en 2002 a examiné l'influence du pH sur le biosurfactant produit, et a déterminé que celui-ci était de 8,0, ce qui reflète le pH naturel de l'eau de mer.

I.3.5.4. Aération et agitation

La production de biosurfactants est fortement influencée par l'aération et l'agitation, deux éléments qui favorisent le passage de l'oxygène de la phase gazeuse vers la phase aqueuse. Ils peuvent aussi être associés à la fonction physiologique de l'émulsifiant microbien. On a proposé que la fabrication de bio émulsifiants puisse faciliter la dissolution des substances qui ne se dissolvent pas dans l'eau. Donc, cela facilite l'acheminement des nutriments vers les microorganismes **(Adamczak et Bednarski., 2000).**Nous avons constaté que la productionoptimale de l'agent tensioactif (45,5g/l) se produisait lorsque le flux d'air était de 1vvm et que la concentration en oxygène dissous était maintenue à 50 % de saturation.

I.3.5.5. Concentration en sel

La production de biosurfactants a également été influencée par la concentration en sel d'un environnement spécifique, étant donné que les activités cellulaires des micro-organismes sont modifiées par la salinité. Cependant, pour certains biosurfactants, des observations opposées ont été notées, n'ayant pas subi d'effets même à des concentrations atteignant 10 %

(poids/volume). Néanmoins, de minimes diminutions de la Concentration Micellaire Critique (CMC) ont été observées **(Desai et Banat .,1997).**

I.3.6 : propriétés physicochimique des biosurfactants :

Les propriétés des biosurfactants par rapport à leurs homologues synthétiques rendent les plus convenables pour des applications commerciales. Ils sont caractérisés par leur activité de surface, leur biodégradabilité, leur faible toxicité et leur résistance aux conditions extrêmes du pH, température et salinité **(Déziel et *al*., 2000).**

I.3.6.1 : Diminution de la tension superficielle :

La tension de surface est caractérisée comme la force présente à la surface d'un liquide, résultant de l'attraction entre les molécules qui résistent à la rupture de cette surface. Elle se manifeste en termes de Dyne/cm ou de mN/m. L'amphiphilie des tensioactifs justifient leur propension à se rassembler à la surface de l'eau ou à l'interface d'un autre liquide, ce qui entraîne une réduction de la tension superficielle ou interfaciale. En effet, un bon surfactant peut abaisser la tension superficielle de l'eau de 72 à 35 mN/m et la tension interfaciale eau/hexadécane de 40 à 1 mN/m **(Mulligan., 2009).**

Ⅰ.3.6.2 : Concentration micellaire critique (CMC) :

L'une des propriétés majeures des surfactants est leur capacité à créer des agrégats moléculaires dénommés micelles : une structure thermodynamiquement stable de molécules amphiphiles qui adopte la forme d'une sphère ayant un revêtement hydrophile et un noyau hydrophobe, où les segments hydrophobes se rassemblent au centre tandis que les zones hydrophiles externes demeurent en contact avec l'eau.

On définit la CMC comme le niveau de concentration minimal requis pour déclencher la formation de micelles (**Pacwa-Płociniczak et *al*., 2011).** Avant d'atteindre la Concentration Micellaire Critique (CMC), les molécules de surfactant chimique ou biologique existent sous une forme dissoute dans la phase liquide. Quand la concentration micellaire critique est atteinte, les molécules de surfactant en surplus créeront des micelles et la partie dissoute demeurera stable, à condition que les conditions physico-chimiques restent inchangées. La CMC peut être considérablement affectée par des variations de température, de pH ou l'introduction d'électrolytes **(Déziel et *al*., 2000 ; Mulligan., 2009).**

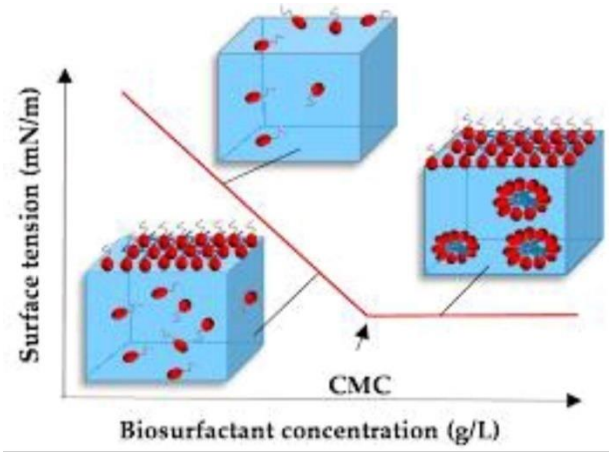


Figure I.3.2 Variations de la tension superficielle et la formation des micelles en fonction de la concentration en surfactant (**Campos et *al.*, 2013).**

I.3.6.3 : Emulsification

Une émulsion est un système non homogène formé d'un liquide qui ne se mélange pas dans un autre liquide sous la forme de petites gouttes, dont le diamètre excède généralement 0,1 mm. Les émulsions ont une stabilité limitée, cependant, l'incorporation de biosurfactants peut entraîner une émulsion qui reste stable pendant plusieurs mois, voire des années. Pour illustrer, le liposane, un émulsifiant produit par Candida lipolytica, a créé des émulsions durables avec des huiles comestibles sur une période de 3 mois **(Cirigliano et Carmen., 1984;Sarubbo et *al.*, 2007).**

I.3.6.4. Tolérance aux conditions extrêmes de températures ,PH, et salinité :

Les caractéristiques de plusieurs biosurfactants demeurent inaltérées face aux facteurs environnementaux tels que la température, le pH et les niveaux de salinité. Plusieurs biosurfactants sont aptes à être utilisés à des températures hautes et à des niveaux de pH variant de 2 à 12. Ils supportent également une concentration de NaCl pouvant atteindre 30% (**Gana et *al.*,2009),** alors que 2% de NaCl est suffisant pour désactiver les tensioactifs synthétiques (**Santos et *al.*, 2016).**

Le biosurfactant généré par *Candida sphaerica* a démontré une remarquable stabilité face à des températures de 5 à 120 °C, un pH de 2 à 12 et des concentrations en Na Cl pouvant atteindre 10%**.(Luna et *al.*,2013)**

I.3.6.5 : Faible toxicité :

Très peu de données sont disponibles dans la littérature concernant la toxicité des biosurfactants. Ils sont généralement considérés comme des produits peu ou pas toxiques et sont donc appropriés pour l'utilisation dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques. Une étude a suggéré qu'un tensioactif anionique synthétique (Corexit) a montré une CL50 (concentration létale pour 50% des espèces testées) contre la bactérie Photobacteriumphosphoreum dix fois plus basse que les rhamnolipides**(Vijayakumar et Saravanan., 2015).** Des tests de toxicité réalisés par **Luna et *al.,(*2013)** ont montré l'absence de toxicité des biosurfactants produits par *Candida Sphaerica* vis à vis d'une espèce des crustacés *Artemia salina* et des végétaux *Solanumgilo,Lactuca sativaL* et *BrassicaoleraceaL*. Les mêmes résultats ont été obtenus par **Hentati et *al,. (*2016)**en évaluant la toxicité des biosurfactants produits par *Bacillus stratosphericus*. Ils ont montré que les biosurfactants étudiés n'ont pas des effets toxiques sur des cellules rénales humaines à des concentrations différentes allant jusqu'à 1000 µg/ml. Cependant, **Wang et *al.,(*2008)**ont montré que les rhamnolipides produits par *Pseudomonas aeroginosa* avaient un effet algicide sur l'algue microscopique Heterosigmaakashiwo à des concentrations supérieures à 0.4 mg/L.

I.3.6.6 : Biodégradabilité :

Les biosurfactants, grâce à leur provenance biologique, paraissent être plus aisément que leurs contreparties synthétiques sont plus biodégradables. Ils sont aisément dégradés par les Micro-organismes présents dans l'eau et le sol **(Mohan et *al.,* 2006 ; Mulligan., 2009).**

I.3.7 : application des biosurfactants :

Compte tenu de leurs propriétés, les biosurfactants sont utilisés dans de nombreux domaines (tableau I.2).

Tableau I.3.1 : Différents domaines d'application des biosurfactants (**Parra J.et *al.*,1989).**

Fonction	**Champs d'application**
Inhibiteur de corrosion	Environnement
Emulsifiant et dispersant	Cosmétique, peinture, produit alimentaire
Solubilisant et microémulsions	Pharmaceutique, articles de toilette

Agent mouillant et pénétrant	Pharmaceutique, industrie textile, peinture
Détergent	Nettoyants ménages, produits de l'agriculture
Agent moussant	Cosmétique, article de toilette
Agent épaississant	Peintures
Agent séquestrant des métaux et Aide à la croissance bactérienne	Minerais, traitements des huiles usagées pour boues des stations d'épuration, fermentation
Désémulsifiant	Traitement de déchets
Dispersant	Séparation des mélanges goudron /pétrole ou goudron/eau
Récupération de ressources	Récupération assistée de pétrole

I.3.8.les biosurfactants des bactéries thermophiles :

Les bactéries thermophiles, qui sont les plus répandues dans les réservoirs pétroliers et qui ont également fait l'objet de nombreuses études comparées aux microorganismes mésophiles, représentent respectivement la chaleur intense caractéristique de la majorité des écosystèmes pétroliers et l'intérêt croissant qu'elles suscitent sur le plan industriel en raison de leurs enzymes thermostables. Par conséquent, de nombreuses bactéries thermophiles ont été régulièrement extraites des sites pétroliers (**Magot et *al, 2000*).**Parmi les produits considérés comme potentiellement bénéfiques pour une récupération optimale du pétrole figurent les biosurfactants. Ces agents tensioactifs sont générés par divers microorganismes, principalement aérobies, bien que quelques instances de production dans des conditions anaérobies aient été signalées **(Brown et *al.*, 1986).**

I.3.9. Avantage des biosurfactants :

SelonGAKPE et *al.,(*2007)

Les biosurfactants possèdent les mêmes propriétés que ceux de leurs homologues d'origine chimiques ; mais ils possèdent de nombreux avantages potentiels spécifiques :

- Biodégradabilité.
- Biocompatibilité et digestibilité.
- Disponibilité des matières premières.
- Économies de production acceptables.

- Utilisation dans le contrôle de l'environnement.
- Spécificité.

I.3.10.Les inconvénients des biosurfactants :

Selon **HEALY et *al.,(*1996),**Le principal facteur limitant l'usage des biosurfactants demeure l'aspect économique d'une production à grande échelle, dont les principaux obstacles sont :

- Faibles rendements de production par rapport au substrat(s).
- Importants investissements de capitaux.
- Faibles rendement volumiques.
- Problèmes de contrôle de procédé comme la formation de mousse.
- Problèmes de récupération et de purification de produit.
- Problèmes de caractérisation des produits finis en raison de leur complexité chimique.

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

II.1Matériel :

II.1.1 Verreries

Erlenmyer,Bécher, Flacons en verre, Tubes à essai, pipette graduer, lame, Lamelle.

II.1.2 Appareillage :

Agitateur , vortex ,Balance ,Densitomètre ,PH-mètre ,Bec bunsen ,Autoclave , Etuve ,Distillateur ,Bain marie , Incubateur ,L'hôte microbiologique ,Réfrigérateur ,Microscope optique ,Agitateur-incubateur .

II.1.3 Milieux de culture :

Thermus Thermophilus Medium(TTM), Bouillon nutritif, Mueller Hinton (MH), Milieu Luria-Bertani(LB), Milieu Minimum(MM).

II.1.4 Autres produits consommables :

Lugol, Fushine, Violet de gentiane, Alcool, L'eau distillé,Ethanol.

II.1.5 Autres matériel :

Entonnoir, Eprouvette graduée,pro-pipette, Spatule, Barreau et tige magnétique, Pince, anse á platine, Eppendorf, embout, pissette, Micropipette, Boites de pétri, les écouvillons.

II.2 Méthode :

II.2.1 période et lieu d'étude :

Toute la partie expérimentale a été réalisée au laboratoire pédagogique de la faculté des sciences à l'université de Dr Yahia Fares Médéa pendant la période allant de Mares à Mai 2025.

II.2.2 Objectifs d'étude :

- Enrichissement et identification phénotypique des souches thermophiles.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne des souches thermophiles vis-à-vis quatre souches bactériennes de références (*Staphylococcus aureus,Escherichia coli,Bacillus sibtilus* et *pseudomonas aerigunos*), et deux champignons (*Aspergilus brasiliensis* et *Candida albicans*) selon la technique des cylindres d'agar .
- Étude de la production et de la caractérisation des biosurfactants produits par les souches thermophiles.

II.2.3 revivification et identification des souches :

Les souches ont été extraites en 2021 de trois sources hydrothermales situés en Algérie.

II.2.3.1 revivification des souches

Á partir des souches bactériennes conservées depuis l'année (2021), une quantité a été prélevée á l'aide d'une micropipette placée dans des tubes Eppendorf contenant 500 µl de TTM **(annex 1)**, puis incubée dans une étuve á 60°c pendant 24h. Après 24h,100 µl des suspensions ont été ensemencées dans des boîtes de pétrie contenant le milieu TTM**(annex 1)**, puis incubées dans une étuve á 60°c pendant 24h à 48h.

II.2.4 Identification phénotypique des souches

Une série d'études, macroscopique et biochimique a été réalisée pour l'ensemble des souches enrichies en aérobiose.

L'identification phénotypique macroscopique des souches bactériennes a été réalisée selon le système de classification phénotypique décrit dans le Manuel de classification des bactéries de Bergey (**Bergey's Manual of Systematic Bacteriology).**

A. Examen macroscopique

Les principaux caractères á étudier sont : la forme des colonies (rondes, irrégulières,etc .) la taille des colonies par la diamètre , la couleur de la colonie, L'élévation (convexe, concave,

plate), L'opacité (opaque ; translucide ou transparente) ,la surface (lisse,rugueuse, sèches, dentelée ; etc.)

B. Examen microscopique après coloration de Gram :(annexe 2)

La technique Préparation du Frottis

- Sur une lame de microscope, déposer une goutte d'H2O.

- A l'aide d'une anse stérilisé (passant sous le bec benzène), toucher une colonie pour prélever des bactéries.

- Déposer ce prélèvement au milieu de lame, puis passer la lame dans la petite flamme du bec bunsen pour fixer à la chaleur.

- Déposer quelques gouttes de solution de violer de gentiane (cristal violer) sur le frottis fixé. - Laisser agir 1 min, puis rincer à l'eau.

- Déposer quelques gouttes de Lugol (un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries) sur le frottis, Laisser agir 1 min et rincer brièvement à l'H2O.

- Verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 s). Rincer avec l'eau. L'alcool pénètre dans la bactérie.

- La coloration au violet de Gentiane disparait. Les bactéries décolorées sont des bactéries Gram- si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.

- Contre-colorer en déposant la solution de safranine (rose) pendant 1 min. Ce colorant permet de visualiser les bactéries Gram- décolorées à l'étape précédente. Cette coloration moins forte que le violet n'affecte pas la couleur des Gram+.

- Laisser sécher à l'air.

- Observer au microscope (grossissement 40x puis grossissement 100x avec une goutte d'huile à immersion).

II.2.5 Recherches des activités antimicrobiennes sur milieu solide (technique des cylindres d'agar).

Les propriétés antimicrobiennes des souches ont été évaluées à l'aide de la méthode des disques d'agar **(Radhika et al., 2011).**

Cette technique consiste à ensemencer des cultures sur de la gélose TTM en tracés serrés pour créer un matelas de bactéries.

Après une incubation de 24 heures à 60°C, des cylindres d'agar d'environ 6 mm sont extraits.

Ces cylindres sont ensuite placés sur des boîtes de Pétri contenant du milieu de Muller-Hinton (voir annexe 3), préalablement ensemencées avec des souches témoins (100 ml de Muller-Hinton combiné à 20 ml de suspension bactérienne).

Cette méthode suit les directives du CLSI (2010), avec quelques ajustements.

Les boîtes sont incubées à 37°C pour les bactéries et à 25°C pour les champignons. Ces conditions d'incubation sont maintenues tout au long de l'étude.

Après 24 à 48 heures d'incubation, on observe la présence de zones d'inhibition.

Toute zone d'arrêt de croissance autour des disques, même minime, est considérée comme un résultat positif **(Kitouni, 2007).**

II.2.6 La production des biosurfactants :

II.2.6.1 Sélection des souches productrices de biosurfactant

14 souches bactériennes thermophiles (W2, W6, J, E, W3, W7, H11, B, W11, Ft, A, P, K, F) ont été sélectionnées pour leur performance à produire de biosurfactants

Ces 14 souches thermophiles ont été choisies en raison de leur activité antimicrobienne, qui indique une possible production de biosurfactants.

Des repiquages successifs sur milieu solide ont été effectués pour la purification des souches sous forme de colonies bien isolées.

II.2.6.2 Préparation de préculture bactérienne :

Une seule colonie des souches thermophiles conservées à 4 °C a été mise dans milieu liquide LB **(annex 4)** et puis incubées à 55°C pendant 24h pour avoir un bon trouble de croissance (DO=1).

Ces dernières cultures ont servi à inoculer les milieux qui seront employés pour suivre la production des biosurfactants.

II.2.6.3 Préparation de culture bactérienne

Les expériences ont été réalisées dans des flacons de 250 ml contenant 100 ml de milieu minimum « MM »**(annex 4),** additionné de 0.5% de l'huile d'olive comme source unique du carbone. Ce milieu liquide est inoculé avec 5% de la préculture. L'incubation s'effectue à 55 °C sous une agitation de 150 tr/min pendant 48 heures.

II.2.6.4 Les tests de production des biosurfactants

L'évaluation de la production des biosurfactants a été réalisée selon les méthodes suivantes :

- **Indice d'Emulsification (E24)**

(Méthode quantitative) :

L'émulsification est pratiquement estimée par l'indice d'émulsification E24 où on mélange des volumes égaux de surnageant (4 ml) et de solution hydrophobe (huile d'olive) (4ml) dans un tube à essai, le mélange est bien agité au vortex pendant 2 min jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène, puis laisser au repos pendant 24 h avant de prendre la mesure (**Abouseoud et *al.*,2008)**comme le montre la figure II.1.

le surnageant fait référence au liquide récupéré après centrifugation de la culture bactérienne incubée dans le milieu MM contenant l'huile d'olive. Il est donc le liquide clair qui contenant les métabolites extracellulaires, dont les biosurfactants potentiels produits par les bactéries. C'est ce surnageant (4 mL) qui est utilisé pour le test d'émulsification (E24), en le mélangeant avec 4 mL d'huile d'olive.

L'indice d'émulsification est défini comme étant le rapport de la hauteur de la couche émulsionnée (He) sur la hauteur totale (Ht) et en multipliant par 100 **(Francyetal., 1991;Bodouretal., 2004)** selon la formule suivante :

E24 = (He/Ht) *100

Avec He : La longueur de la couche émulsionnée.

HT : La longueur totale du mélange.

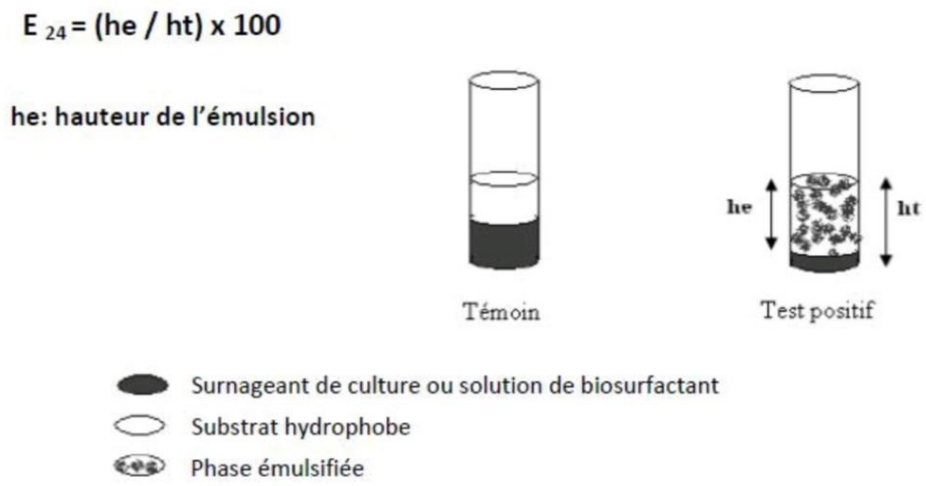


Figure II.1 : Test d'émulsion (E24).

❖ Test de déplacement d'huile

(Méthode semi-quantitative)

Cette méthode est basée sur la caractéristique du biosurfactant à changer l'angle de contact à l'interface huile-eau. La pression de surface du biosurfactant est capable de déplacer l'huile. La méthode décrite ci-dessous est basée sur celle déjà décrite par **Morikawa et *al.*(1993)** avec quelques modifications. Un (01) ml d'huile de moteur est étalé sur toute la surface d'eau distillée (25 ml) remplissant une boîte de Pétri(90 mm de diamètre). Une fine couche d'huile se forme immédiatement. Par la suite, 200 µL de surnageant sont déposés doucement au centre de la couche d'huile, entraînant la formation d'un halo clair. Le diamètre du cercle ainsi formé est mesuré après 30s et 24h.

❖ Test d'hémolyse

(Méthode qualitative)

Les biosurfactants peuvent provoquer une lyse des érythrocytes. Ce principe est utilisé pour le test d'hémolyse (**Walter et *al.*, 2010).**

L'ensemencement sur gélose au sang est souvent utilisé pour le criblage de microorganismes producteurs des biosurfactants, ce milieu de croissance est riche pour la croissance de nombreux microorganismes (**Walter et *al.*, 2010).**

Une concentration de 5% de sang frais maintenu à une température ambiante, a été ajoutée aseptiquement au milieu de culture gélose de base préalablement autoclavé et liquéfié, **(Sidkey et *al.*, 2016).**

Le mélange a été ensuite homogénéisé délicatement par retournements successifs du flacon, pour empêcher la formation de bulles d'air puis coulé sur des boites de pétri.

Pour réaliser, un criblage primaire des souches productrices de biosurfactants, les colonies isolées et purifiées ont été ensemencées par spot à l'aide d'une pipette pasteur stérile sur la gélose au sang, et incubées à 55°C, pendant 24h à 48h.

L'activité hémolytique est détectée par la présence d'une zone claire autour des colonies.

Ⅱ.2.6.5Extraction des biosurfactants

Précipitation acide

Le surnageant qui contient des cellules bactériennes ont été éliminées par centrifugation (6 000 tr/min à 4 °C pendant 20 min). Après cela, le biosurfactant a été précipité à partir de surnageant par l'HCl, en ajustant le pH 2,0, et en le gardant à 4 ºC pendant 24 h. Ensuite, la couche organique a été recueillie par centrifugation à 6 000 tr/min à 4 °C pendant 20 min **(Pereira., 2013 ; Yalaoui-Guellal et *al.*, 2017).**

Chapitre III

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Isolement et identification des souches

A partir des trois sites hydrothermaux en Algérie, 29 souches thermophiles d'aspect différents ont été isolées en (2021).ces souches ont ensuite été soumises a une série de test macroscopique et microscopique.

III.1.1 Observation macroscopique

Les résultats de l'observation macroscopiques des souches thermophiles sont présentés dans la figure III.1.

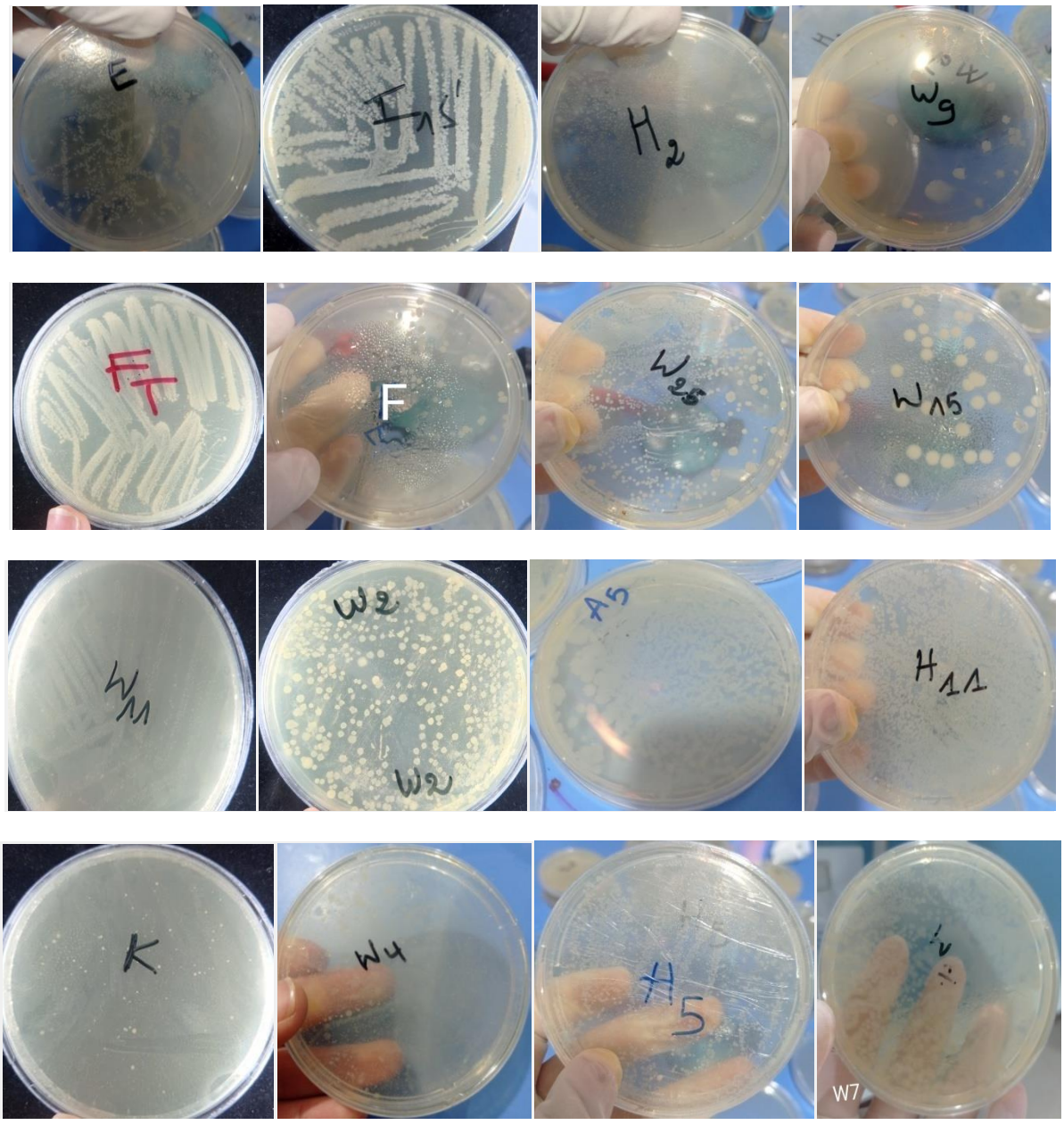


Figure III.1 :L'aspect macroscopique des souches thermophiles.

Tableau III.1 : Observation morphologique des colonies et des cellules bactériennes.

SOUCHES	FORME	ELVATION	BORDE	COULEUR	TAILLE
A	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune claire	Moyenne
B	Ronde	Plate	Régulier	Transparent	Petite
C	Ronde	Plate	Irrégulier	Blanchâtre	Petite
E	Ronde	Plate	Régulier	Blanchâtre	Petite
F	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune claire	Moyenne
G	Ronde	Plate	Irrégulier	Jaune claire	Moyenne
K	Ronde	Bombé	Irrégulier	Blanchâtre	Petite
W11	Ronde	Plate	Régulier	Blanchâtre	Petite
H11	Ronde	Bombé	Régulier	Jaune claire	Petite
A5	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune claire	Moyenne
I10	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune crémé	Moyenne
H5	Ronde	Plate	Régulier	Blanchâtre	Grande
W4	Ronde	Plate	Régulier	Blanchâtre	Petite
W6	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune claire	Petite
W15	Ronde	Bombé	Régulier	Jaune crémé	Grande
W7	Ronde	Plate	Régulier	Blanchâtre	Grande
H2	Ronde	Plate	Régulier	Blanchâtre	Petite
W9	Ronde	Plate	Régulier	Blanchâtre	Petite
FT	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune crémé	Moyenne
W3	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune claire	Moyenne
W25	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune crémé	Moyenne
W2	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune	Grande
I15	Ronde	Bombé	Irrégulier	Jaune claire	Grande

Tableau: III.1 L'aspect des colonies bactériennes a été déterminé selon les critères de base décrits par **Prescott et *al.*, *(*2003).**

Les résultats des colonies obtenues sont généralement ronds avec une pigmentation jaune, jaune clair, jaune crémé, blanchâtre et quelques souches sont transparentes.

L'aspect macroscopique des colonies revivifiées est compatible avec l'aspect des colonies isolées préalablement et les cultures sont pure ce qui confirme qu'ils s'agissent bien des

souchesd’ intérét.

III.1.2 Observation microscopique

Les résultats de l'étude microscopique sont présentés dans la figure et le tableau suivants.

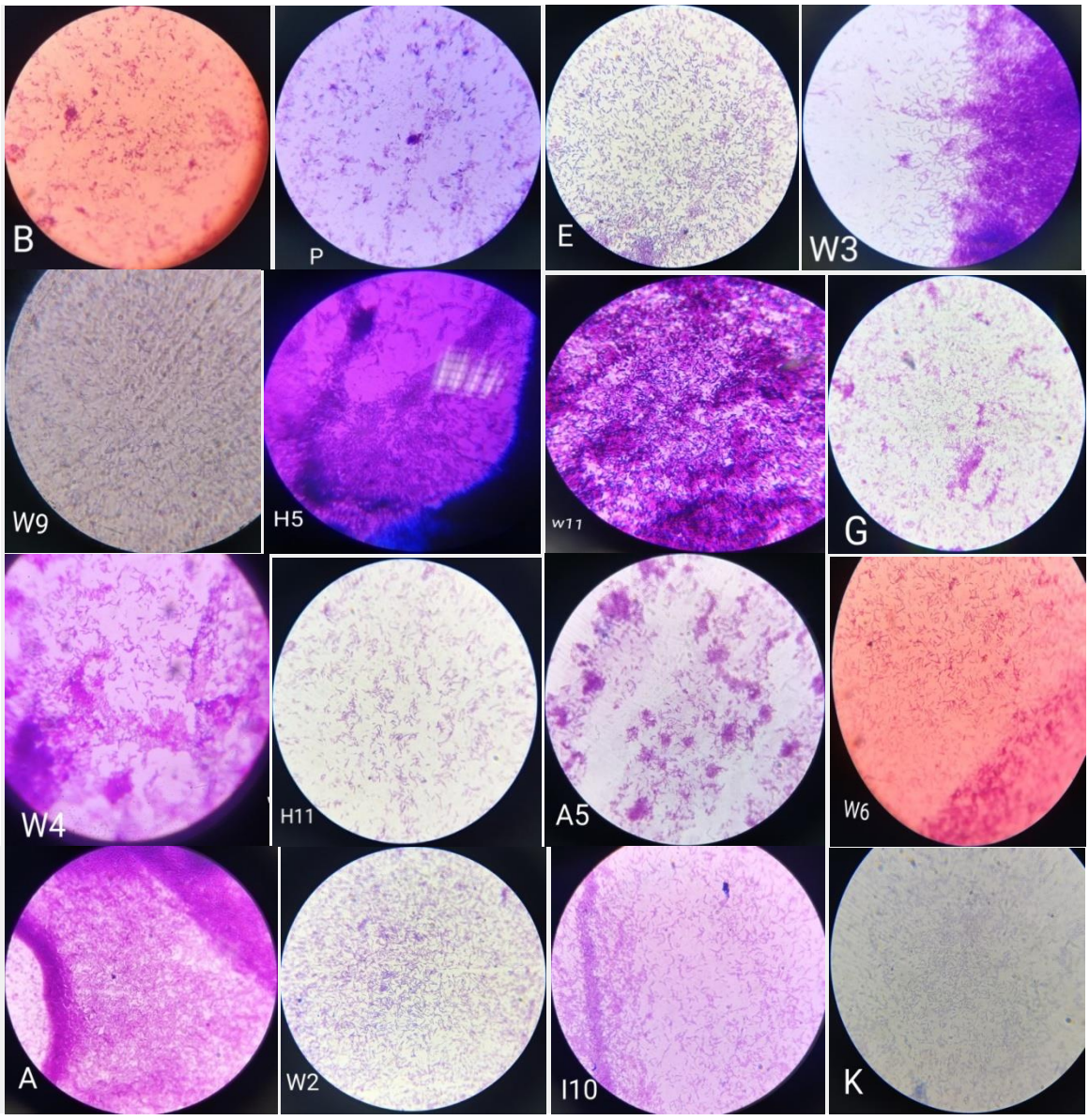


Figure III.2: Laspect microscopique des souches thermophiles (résultats de coloration de Gram).

Tableau III .2 : Résultats de coloration de Gram.

Souche	Gram	Forme
A	-	Bacille
B	+	Bacille
C	+	Bacille
D	+	Coccobacille
E	+	Bacille
F	+	Bacille
J	+	Bacille
G	-	Bacille
Ft	+	Coccobacille
P	+	Bacille
W11	+	Bacille
H11	+	Bacille
A5	-	Coccobacille
I10	+	Bacille
I17	+	Bacille
H8	+	Bacille
H5	+	Coccobacille
W4	-	Bacille
W6	+	Bacille
W15	+	Bacille
W7	+	Bacille
H2	-	Bacille
W9	+	Coccobacille
W3	+	Bacille
W25	+	Bacille
K	+	Coccobacille
W2	+	Bacille
I15'	+	Bacille
W10	+	Bacille

Le tableau III.2 représente les résultats de la coloration de gram (examen microscopique) qui montre que 24 souches sont des Gram positif (+) alors que 5 sont Gram (-).

La plupart des souches sont des Bacilles (23) et le reste (6) souches sont des Coccobacilles.

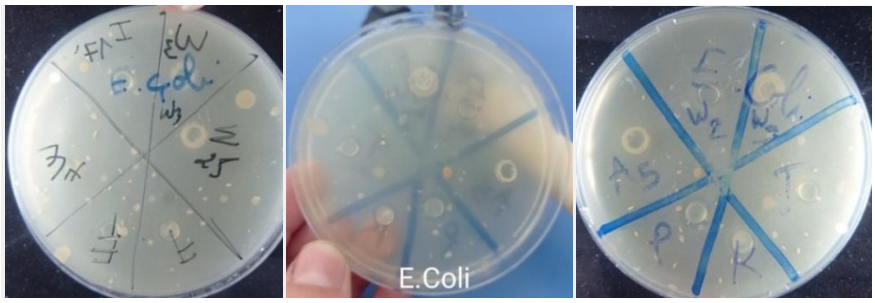
Une étude similaire a été réalisée par **Aissat et Mekki (2019),** qui a pu isoler 10 souches bactériennes de Hammam Guergour (Nord de Sétif, Algérie) dont 9 isolats étaient des bacilles Gram positif, et un isolat de forme coccoïde, Gram négatif.

Une autre étude réalisée par **Gomri (2012)** a révélé que sur 83 souches thermophiles isolées a partir des sources thermales terrestres de l'Est Algérien, 59 souches étaient des bacilles Gram positif(+).

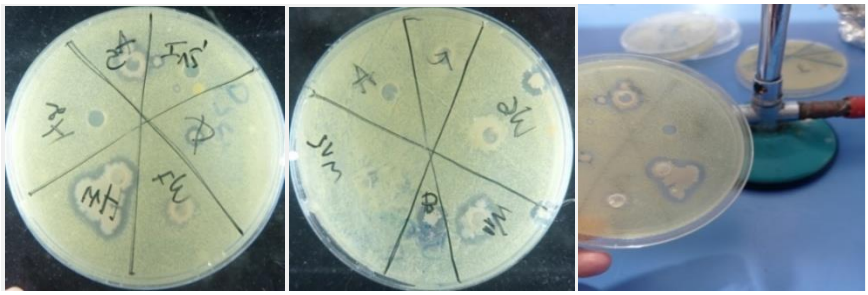
Nos résultats cconcordent aussi avec ceux de **Larbi (2015)** qui a pu isolé 59 souches bactériennes de différentes sources thermales (Hammam Debagh à Galma, Hammam bouhnifia à Mascar, Hammam Bouhjar à Temouchent, Hammam Rabi à Saida), dont 44 isolats étaient des bacilles Gram positif(+), et les autres souches étaient des bacilles Gram négatif et des Cocci Gram positif.

III.2 L'activité antimicrobienne

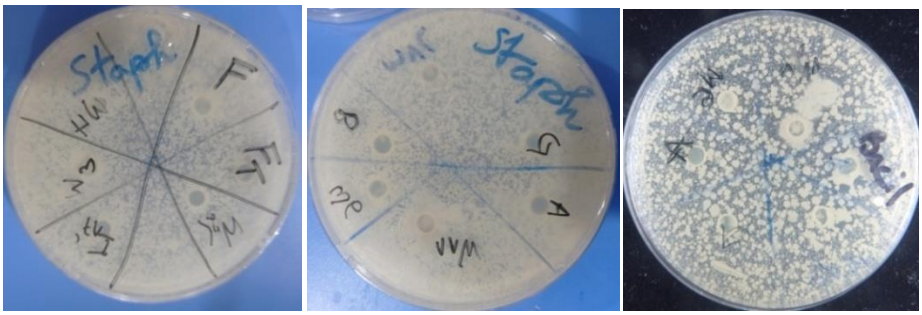
Les résultats de l'activité antimicrobiennes des souches étudiées sont présentés dans **la figureIII.3 et les tableaux III.3 et III.4**



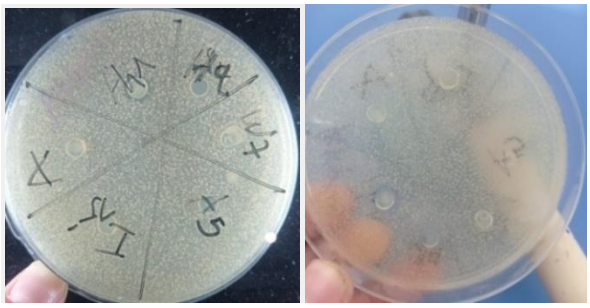
E. coli



P.aeruginosa



S .aureus ***B .subtilis***



A.brasiliensis

Figure III.3 :L'activité antimicrobienne des souches thermophiles contre les souches tests.

Tableau III.3 : Résultats de l'activité antimicrobienne des souches thermophiles contre les souches de références (bactéries et champignons).

	E. coli	**S .aureus**	**P.aeruginosa**	**B .subtilis**	**C. albicans**	**A.brasiliensis**
A	-	-	+	-	-	-
B	-	-	+	-	-	-
C	-	-	+	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-
E	+	-	+	+	-	-
F	+	-	+	-	-	-
Ft	+	-	-	-	-	-
J	+	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-	-
K	+	-	+	-	-	-
P	+	-	-	+	-	-
W2	+	-	+	-	-	-
W4	+	-	-	-	-	-
W6	-	-	+	-	-	-
W7	-	-	+	-	-	-
W9	-	-	+	-	-	-
W11	-	-	+	+	-	-
W15	-	-	-	-	-	-
W25	-	-	-	-	-	-
A5	-	-	+	-	-	-
H11	-	-	+	-	-	+
H8	-	-	+	-	-	-
H5	-	-	-	-	-	-
I10	-	-	-	-	-	-
I17	-	-	-	-	-	-
H2	-	-	-	-	-	-
I15	-	-	-	-	-	-
W10	-	-	-	-	-	-
W3	-	-	-	-	-	-

L'activité antimicrobienne a été examinée sur 29 isolats sélectionnés, en appliquant la méthode du cylindre d'agar pour quatre bactéries et deux champignons, Le tableau 3 présente les résultats.

Selon nos données, une activité antibactérienne contre *Escherichia coli* a été identifiée pour les souches (E, F, FT, J, K, P, W2 et W4) et contre *Pseudomonas aeruginosa* pour les souches (A, B, C, E, F, K, W2, W7, W9, W11, A5, H11 et H8), Cela indique une efficacité générale améliorée contre ces microorganismes.

À l'exception des souches (E, P, W11), la majorité des souches examinées n'ont pas démontré d'efficacité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* et aucune souche n'a été développée pour mener des activités contre le *Staphylococcus aureus*.

En ce qui concerne l'activité antifongique, aucune souche n'a démontré d'activité contre *Candida albicans*, à l'exception De la souche (H11) qui a montré une activité contre *Aspergillus brasiliensis.*

Quatre souches de bactéries thermophiles, montrant une activité antimicrobienne contre certains agents pathogènes testés, ont été isolées à partir d'une source chaude en Arabie Saoudite (**Alrumman et *al.*, 2019).** La tabtoxinine-bêta-lactame, une toxine majeure produite par certaines bactéries telles que Pseudomonas, est un antibiotique bêta-lactame. Elle représente une approche thérapeutique innovante pour lutter contre les agents pathogènes à Gram négatif multirésistants exprimant des niveaux élevés de bêta-lactamases.

La Production de composés antimicrobiens par des bactéries et les champignons sont considérés comme l'une des stratégies pour leur survie grâce à laquelle ils peuvent éliminer la concurrence et maintiennent leur niche **(Talaro et Talaro., 1996; Jensen et Wright., 1997; Mottaet *al.*,2004; Awais et *al.*, *2010*).**

Une souche bactérienne isolée d'un habitat extrêmement inhabituel a montré une activité antimicrobienne contre certains agents pathogènes courants. La persistance de cette activité à 55 °C suggère une thermotolérance de l'isolat ainsi que de son composé antimicrobien. Un tel résultat, mettant en évidence l'activité antimicrobienne d'une souche issue d'un environnement extrême à des températures élevées, met en lumière le potentiel de

bioprospection de cet isolat pour des applications industrielles **(Johnson, 2003 ; Ren et *al*., 2010).**

Souche bactérienne isolée d'un habitat extrême inhabituel ont souvent été signalés pour produire un composé antimicrobien **(Khalil., 2002; Mendo et *al*., 2004; Walczak et Donderski., 2004; Khalil et *al*., 2006; Bushra et *al*., 2007; Awais et *al*., 2008; Muhammad et *al* ., 2009).**

Gayathri et al., (2011), des bactéries thermophiles ont été isolées à partir de divers échantillons de sol de la sebkha de Kenadsa. Les résultats montrent que les souches provenant de ces milieux extrêmes possèdent une activité antimicrobienne nettement supérieure à celle des bactéries issues d'environnements naturels plus classiques comme la rhizosphère, l'eau douce ou les sols floristiques. »

III.3.Production de biosurfactants par des souches thermophiles.

Les résultats du test de l'indice d'émulsification sont présentés dans **Figure III.6** chez les différentes souches sélectionnées productrices de biosurfactants.

III.3.1.L'effet de l'indice d'émulsification.



Figure III.4 : les résultats de test d'émulsification.

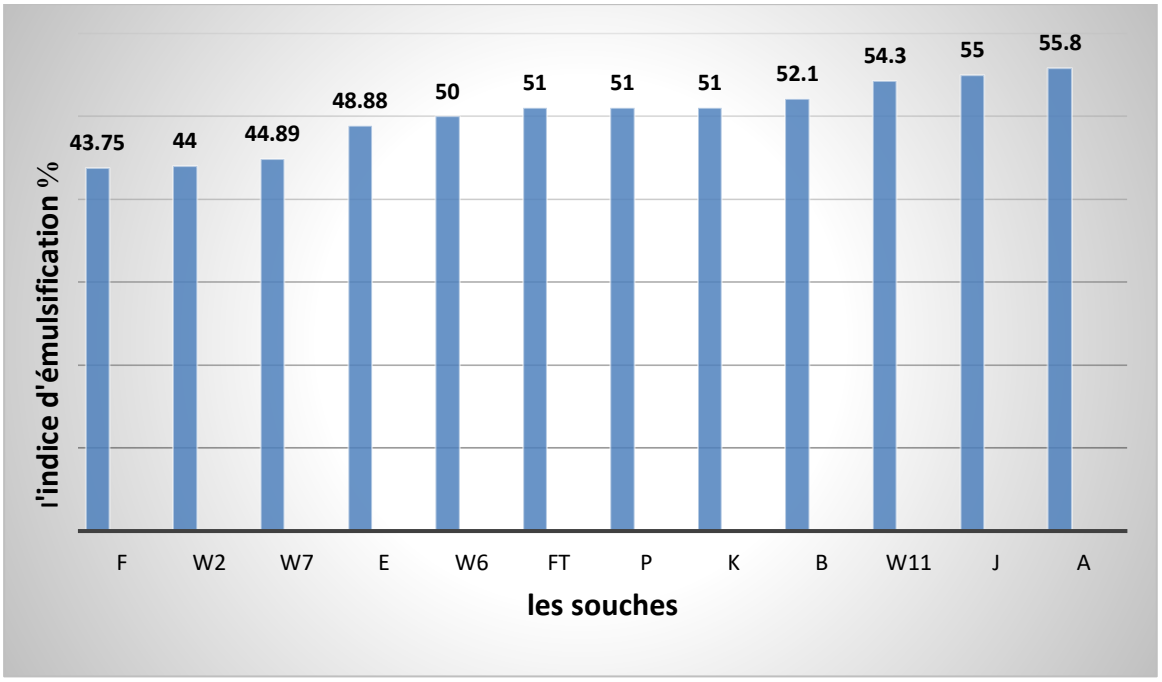


Figure III.5 : présentation du pourcentage de l'indice d'émulsification chez les différentes souches sélectionnées productrices de biosurfactants.

L'examen de l'indice d'émulsification (%E24) des diverses souches choisies révèle une variabilité significative dans leur aptitude à générer des biosurfactants performants en matière d'émulsification. Les données indiquent que la souche A a l'indice d'émulsification le plus haut avec 55,8 %, suivie de près par les souches J (55 %), W11 (54,3 %) et B (52,1 %). Ces souches démontrent une aptitude notable à stabiliser des émulsions, laissant supposer une production importante de biosurfactants dotés de propriétés tensioactives appréciables. Les souches P, FT, K et W6 montrent un indice moyen (approximativement 50 à 51%), signalant une production de biosurfactants de niveau intermédiaire. Malgré un potentiel inférieur à celui des souches précédemment mentionnées, elles conservent un intérêt pour des applications en biotechnologie. Par contre, les souches F, W2 et W7 ont affiché les indices les plus bas, à savoir 43,75 %, 44 % et 44,89 % respectivement, ce qui indique une moindre activité d'émulsification. Ceci pourrait être le résultat d'une production réduite de biosurfactants ou de composés générés ayant une efficacité moindre en matière d'émulsification

On peut mettre ces résultats en parallèle avec ceux de **Guergouri (2017),** qui démontrent que le degré de biodégradation des hydrocarbures fluctue selon le groupe de bactéries. Une autre recherche menée par **Eddouaouda (2012)** a évalué la production de biosurfactants en se fondant sur l'aptitude des souches à produire une émulsion atteignant près de 50%, qui demeure stable pendant 24 heures. On a observé que la production maximale était atteinte avec de l'huile d'olive, qui se caractérise par une tension de surface minimale (33 mN/m), en utilisant quatre types de substrats différents (pétrole, huile moteur, huile de friture et huile d'olive).

L'accroissement de l'indice d'émulsion est en relation directe avec la concentration microbienne. Pour deux souches, il atteint respectivement 52,68 % et 43,54 %..Des résultats similaires ont été trouvés chez *Pseudomonas aeruginosa* qui peut atteindre un index d'émulsion de 50%.**(Benincasa et Accorsini., 2008).**

III .3.2.L'effet de test de déplacement de l'huile de moteur.

Les diamètres mesurés autour des zones de dépôt reflètent la capacité des souches à produire des composés réduisant la tension superficielle. Plus le diamètre est élevé, plus l'activité tensioactive est importante, suggérant une production potentielle de biosurfactants par la souche. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau suivant.

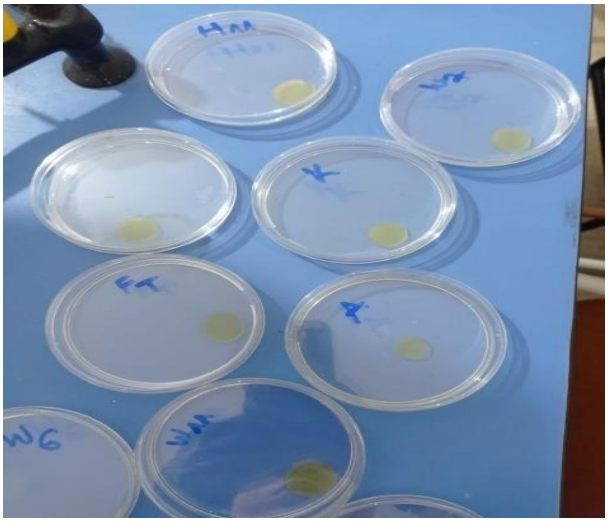


Figure III.6 : Les résultats de test de déplacement après 30s et 24h.

Tableau III.4 : Les mesures de diamètre de la zone claire après 30s et 24h

Les souches	**Diamètre de la zone Claire (cm) après 30s**	**Diamètre de la zone Claire (cm) après 24h**
F	4,5cm	7,5cm
W2	2,5cm	8cm
W7	4,5cm	7,8cm
W6	3,5cm	6cm
FT	2,5cm	4cm
P	4cm	8cm
K	3,5cm	7cm
B	6cm	8cm
W11	4cm	6cm
J	5cm	7cm
A	4,5cm	7cm

Le tableau indique les dimensions du rayon d'inhibition (zone sans croissance) en centimètres, suite à un contact de 30 secondes et de 24 heures pour diverses souches de bactéries.

Une augmentation progressive des zones de déplacement est observée pour la plupart des souches. Cela reflète une diffusion continue du composé en surface avec le temps. Par exemple, la souche W2 passe de 2,5 cm à 8 cm, F de 4,5 cm à 7,5 cm, et W7 de 4,5 cm à 7,8 cm. La souche B se distingue par un effet immédiat marqué (6 cm) qui atteint 8 cm après 24 h, suggérant une action rapide et stable.

D'après **Čipinytė et *al*. (2011),** on a constaté que la dynamique de mouvement de l'huile, évaluée par le diamètre de la zone dégagée sur l'interface huile-eau, se réduisait en fonction de la baisse de concentration du biosurfactant. Par conséquent, le test de dispersion d'huile s'est avéré être le plus approprié pour quantifier l'activité des biosurfactants. Le test de dispersion d'huile a servi à identifier, mesurer et mettre en comparaison les activités des biosurfactants. Pour observer la croissance de la zone claire au fil du temps, on constate qu'après une journée, des souches telles que W2, P et B ont atteint un diamètre de 8 cm, signalant une production constante et persistante de biosurfactants.

En examinant les diamètres après une 30s et 24h pour chaque variété, il a été constaté que la majorité des variétés (F, W7, W6, P, K, W11, J, A) montraient une croissance notable comprise entre 4 cm et 4,5 cm. Ces conclusions rejoignent celles rapportées par **Zenati (2018),** qui a démontré que la margarine et l'huile de moteur usagée avaient aussi une activité assez forte (DDP de 3,5 et 4 cm respectivement). Cela pourrait signaler une activité de biosurfactant qui progresse au fil du temps.

III.3.3 :L'effet de test d'hémolyse.

Le test d'hémolyse sur gélose au sang permet d'évaluer la production potentielle de biosurfactants par les souches bactériennes. Sur la figure, la présence de zones claires autour des colonies indique une lyse des globules rouges, signe d'activité hémolytique. Cette clairance traduit la diffusion de composés capables de perturber les membranes cellulaires, ce qui constitue un indicateur indirect de la production de biosurfactants.

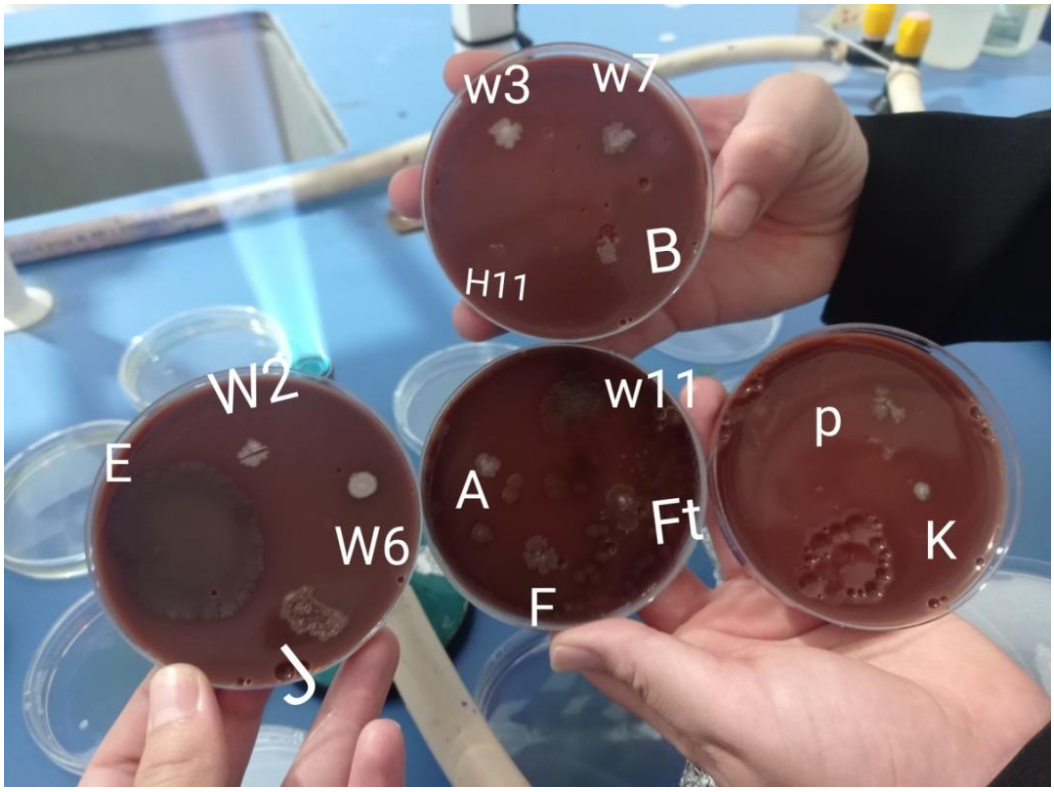


Figure III.6 : Résultats de test d'hémolyse.

Tableau III.5 : Résultats de test d'hémolyse.

Souches	Interprétation	Couleur	Type d hémolyses
W2	+	Zone claire nette	**β**(fort production)
W6	-	Pas de halo	**γ** (pas de production)
J	+	Zone transparente	**β**(bonne production)
E	-	Pas de halo	**γ**(pas de production)
W3	+	Zone légèrement plus	**α** (faible production)

		clair	
W7	+	Halo clair	**α** (faible production)
H11	-	Pas de halo	**γ** (pas de production)
B	+	Légère décoloration	**α** (faible production)
W11	-	Pas de halo	**γ** (pas de production)
Ft	-	Pas de halo	**γ** (pas de production)
A	-	Pas de halo	**γ** (pas de production)
P	+	Zone transparente visible	**β**(bonne production)
K	+	Halo clair	**β**(fort production)

Les souches W2, P, J et K indique une bonne production de biosurfactants (un halo transparent claire).

Les souches W3, W7et B indique une faible production de biosurfactants (un halo légèrement plus claire).

Les souches (W6, E, H11, W11, Ft, A) ne présentes aucun halo auteurs des souches c'est-à-dire pas de production ou bien une très faible production.

- La souche W2 indique une zone claire et nette, c'est-à-dire une bonne production de biosurfactants (hémolyse de type β). En revanche, la même souche montre, dans le test d'émulsification, un pourcentage très faible (44 %), parmi les plus bas, ce qui indique une faible production de biosurfactants.
- Pour les souches J, une bonne production de biosurfactants a été observée (hémolyse β), indiquée par une zone d'hémolyse transparente très nette. Les résultats de l'indice d'émulsification (E24) confirment cette forte production, avec un pourcentage élevé de 55 %.
- La souche P montre une bonne production de biosurfactants (hémolyse β),caril montre une zone d'hémolyse transparente bien visible. L'indice d'émulsification (E24) confirme cette production avec un pourcentage de 51 %, indiquant une production moyenne à élevée.
- La souche K indique également une bonne production de biosurfactants (hémolyse β), présenté par un halo clair autour de la colonie. L'indice d'émulsification (E24) montre

également une production moyenne à bonne, avec un pourcentage de 51 %, le résultat obtenu par le test d'hémolyse.

- La souche W7 présente un halo clair, mais sa production de biosurfactants reste faible (hémolyse α). Cela est confirmé par l'indice d'émulsification (E24), qui indique une faible production avec un pourcentage de 44,87 %.
- Pour la souche B, on observe une faible production de biosurfactants (hémolyse de type α), indiquée par une décoloration légère. Cependant, l'indice d'émulsification (E24) révèle une production moyenne à élevée, avec un pourcentage de 52,1 %.

Des résultats similaires ont été obtenus par **Albasri et *al.*, (2024),** suite à l'isolement d'une bactérie thermophile *Geobacillus stearothermophilus* à partir de la montagne Uhud. Leur étude a également montré que le test d'hémolyse était positif, ce qui a servi comme indication préliminaire de la production de biosurfactants par la souche HA-2. Cette corrélation entre activité hémolytique et biosurfactance renforce l'intérêt de cette souche pour les applications biotechnologiques.

Une autre recherche a été conduite par **(Anandraj et Thivakar ., 2010),**dans laquelle on a criblé *Pseudomonas* pour l'activité tensioactive sur un milieu de culture à la gélose au sang, ce qui a révélé une hémolyse. De nombreuses recherches ont examiné l'usage du test d'hémolyse sanguine pour identifier la production de biotensioactifs par l'espèce *Pseudomonas aeruginosa(* **Nicholas et *al.,(*2000) ; Satpute et *al., (*2008) ; Anandraj etThivakaran., 2010 ; Samanta et Collaboration., 2012 ; Sneha et *al., (*2012)).**

III.3.4 :L'extraction des biosurfactants.

Un précipité visible au fond des tubes indique la réussite de l'extraction des biosurfactants chez certaines souches thermophiles. Ce dépôt résulte de la concentration du composé après précipitation, traduisant la capacité de ces souches à produire des substances tensioactives.

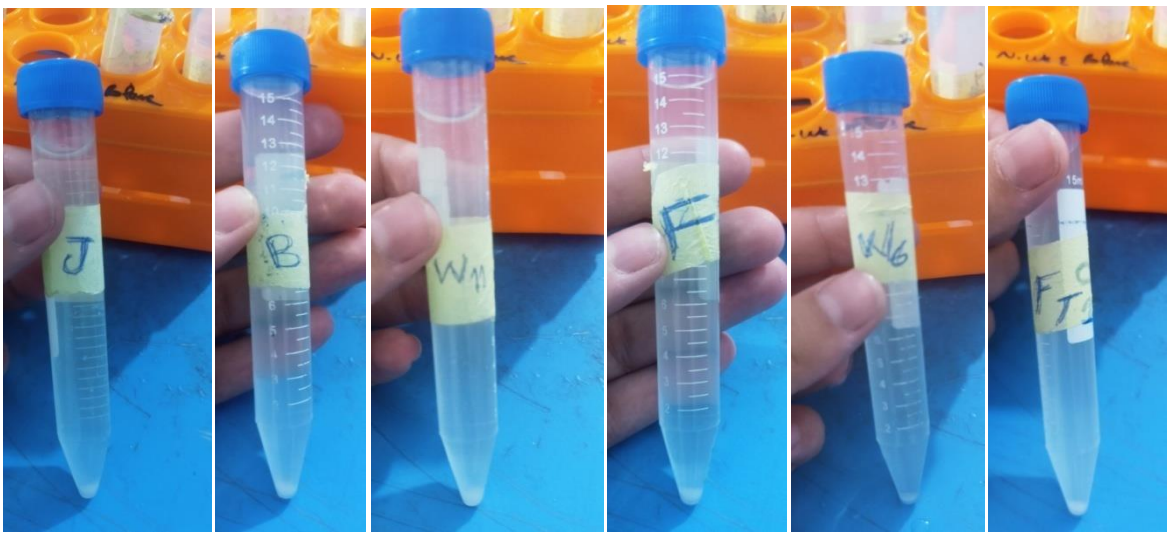


Figure III.8 : Résultats de l'extraction des biosurfactants.

La technique d'extraction des biosurfactants par précipitation acide a présenté un précipité au fond de tube avec une couleur blanchâtre.

Les tubes J, B, W11, F, W6, Ft montre une couleur blanchâtre au fond des tubes c'est-à-dire une présence des biosurfactants.

Cependant, la souche F et B indique la plus grande quantité des biosurfactants par rapport les autres souches.

La souche W6 présente une très claire couleur blanchâtre est une petite quantité de précipiter, l'extrait n'est pas concentrer, donc une petite quantité de biosurfactants dans ce tube.

Une étude similaire a été réalisée par **Gudiña et al. (2015)** sur des souches de Bacillus subtilis, où l'extraction des biosurfactants par précipitation acide a montré un précipité blanc

au fond des tubes, ce qui indique une présence significative de biosurfactants. Les auteurs ont obtenu une concentration moyenne de 0,77 à 1,01 g/L. Cela est comparable à nos résultats observés pour les souches F et B, qui montrent également une couleur blanchâtre intense, signe d'une production relativement élevée.

Quand des prélèvements ont été réalisés dans des régions polluées par des hydrocarbures, 22 % des micro-organismes identifiés ont démontré une activité de surface. Ces observations indiquent une forte association entre la décomposition des hydrocarbures et la synthèse de biosurfactants par les micro-organismes**. (Parra et *al.*, 1989).**

Raza et *al.*,(2007), ils ont employé l'huile d'olive comme unique source de carbone dans le processus de production du biosurfactant par *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui a permis une réduction de la tension superficielle à 29 mN/m. Suite à une incubation de 5 jours, le biosurfactant a été isolé du milieu de production grâce à une précipitation acide. La souche a été capable de générer 2,4g de biosurfactant par litre du milieu minéral M2 enrichi de 4% d'huile de tournesol en tant que seule source de carbone.

Conclusion

CONCLUSION

Les microorganismes thermophiles sont des organismes microscopiques capables de croître et de survivre à des températures élevées, généralement comprises entre 45 °C et 80 °C. Ils se développent naturellement dans des milieux chauds tels que les sources hydrothermales, les geysers ou les fonds marins volcaniques. Grâce à des adaptations moléculaires spécifiques, comme des enzymes thermostables et des membranes résistantes à la chaleur, ils présentent un grand intérêt pour les biotechnologies industrielles, où des conditions extrêmes sont souvent requises.

Cette étude constitue une synthèse bibliographique sur les microorganismes thermophiles, ainsi qu'une évaluation de l'activité antimicrobienne de 29 souches thermophiles, isolées à partir de trois sources hydrothermales en Algérie. Ces souches ont été testées contre des souches de référence (quatre bactéries et deux champignons), et leur capacité à synthétiser des biosurfactants.

Ces 30 souches ont été soumises à une identification macroscopique et microscopique. Les résultats montrent que ces souches présentent des aspects macroscopiques variés, et que la majorité d'entre elles sont des bactéries à Gram positif.

Concernant l'activité antimicrobienne, les résultats montrent que les souches(E, F, Ft, J, K, P, W2 et W4) présentent une activité contre la souche *Escherichia coli (E. coli)*. Contre *Pseudomonas aeruginosa*, les souches (A, B, C, E, F, K, W2, W6, W7, W9, W11, A5, H11 et H8) ont montré une activité. En ce qui concerne la bactérie *Bacillus subtilis*, seules les souches(E, P et W11) présentent une activité antibactérienne. Aucune souche n'a montré d'activité contre la souche *staphylococcus aureus*.

Pour l'activité antifongique, seule la souche H11 a montré une activité contre la souche *Aspergillus brasiliensis*.Aucune souche ne présente d'activité antifongique contre *Candida albicans*.

La 2e partie de ce travail concerne les biosurfactants. Les résultats montrent que les souches (F, W2, W7, E, W6, Ft, P, K, B, W11, J, A) produisent des biosurfactants, qui présentent un indice d'émulsification variant entre 45%et 55%, ainsi qu'un test de déplacement de diamètre différent. Pour le test d'hémolyse sur sang, il y a également des zones de diamètres différents.

CONCLUSION

A la fin, les microorganismes thermophiles sont indispensables pour plusieurs écosystèmes extrêmes et procédés biotechnologiques, grâce à leur aptitude à vivre et fonctionner sous des températures hautes. Leur intérêt industriel est renforcé par leur production de biosurfactants, des substances naturelles dotées d'une remarquable action tensioactive. Ces biosurfactants résistants à la chaleur ont un potentiel considérable pour diverses applications, comme la dépollution, la bioremédiation, le secteur pétrolier ou même la pharmacie, en proposant une option écologique et performante face aux surfactants chimiques conventionnels.

REFERECES

BIBLIOGRAPHIQUES

Aanniz T, Ouadghiri M, Melloul M, Swing, Elfahim E, Ibijbijben J, Ismaili M, Ammar M, (2015), Thermophilic bacteria in Maroccan hot springs, salt marshes, and desert soils. Brazilian journal of microbiology, Vol. 46, no. 2, p.443453.

Abouseoud, M., Maachi, R., Amrane, A., Boudergua, S. et Nabi, I. 2008. Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by Pseudomonas fluorescens. Desalination 223, 143-151

Alain, K., Geslin, C., Godfroy, A., Prieur, D. (2010). Les thermophiles. [En ligne]

Allouche, F. N., Hellal, A., & Laraba, A. (2010). Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. Revue Nature et Technologie, 2(2), 13-20.

Albasri, H. M., Almohammadi, A. A., Alhhazmi, A., Bukhari, D. A., Waznah, M. S., & Mawad, A. M. M. (2024). Production and characterization of rhamnolipid biosurfactant from thermophilic Geobacillus stearothermophilus bacterium isolated from Uhud mountain. Frontiers in Microbiology, 15, Article 1358175. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1358175

ANANDRA B. et THIVAKARAN P., (2010). Isolation and production of biosurfactant producing organism from oil spilled soil, Bioscience Technology, 1(3): 120- 126.

Adamczak, M. and W. o. Bednarski (2000). "Influence of medium composition and aeration on the synthesis of biosurfactants produced by Candida antarctica." Biotechnology Letters 22(4): 313-316

Alrumman, S. A., Mostafa, Y. S., Al-Qahtani, S. T. S., Sahlabji, T., & Taha, T. H. (2019). Antimicrobial Activity and GC-MS Analysis of Bioactive Constituents of Thermophilic Bacteria Isolated from Saudi Hot Springs. Arabian Journal for Science and Engineering, 44(1), 75-85.

Awais M, Pervez A, Qayyum S, Saleem M (2008). Effects of glucose, incubation period and pH on the production of peptide antibiotics by Bacillus pumilus. Afr. J. Microbiol. Res. 2:114-119.

Awais M, Pervez A, Yaqub A, Shah MM (2010). Production of antimicrobial metabolites by Bacillus subtilis immobilized in polyacrylamide gel. Pak. J. Zool. 42(3):267-275.

Boucee Khelifa, (2016). Caractérisation de souche bactérienne isolée à partir de sources thermale du Nord algérien : étude des propriétés enzymatiques. Bacteriology, 2 émeéd. Vol 3, The Firmicutes. Springer, New York, USA,

Bodour, A.A., Gerrero-Barajas, C. et Maier, M. 2004. Structure and characterization of Flavolipids, a novel class of Biosurfactants produced by Flavolipid sp. Strain MTN11. App and Env Microbiol, 10(6): 1114-20.

Banat, I. M., De Rienzo, M. A. D., & Quinn, G. A. (2010). Microbial biosurfactants: Production, applications and future potential. Applied Microbiology and Biotechnology, 87(2), 427–444.

Brown MJ, Moses V, Robinson JP, Springham DG. (1986). Microbial enhanced oil recovery: Progress and prospects. Critical Reviews in Biotechnology, 3(3), 159–197.

Bognolo, G. 1999. Biosurfactant as emulsifying agents for hydrocarbons, Colloids and Surfaces. A : Physico-Chemical and Engineering Aspects, 152 (1-2), 41-52

Bushra J, Hasan F, Hameed A, Ahmed S (2007). Isolation of Bacillus subtilis MH-4 from soil and its potential of polypeptidic antibiotic production. Pak. J. Pharm. Sci. 20(1):26-31.

Benincasa, M., & Accorsini, F. R. (2008). Pseudomonas aeruginosa LBI production as an integrated process using the wastes from sunflower-oil refining as a substrate. Bioresource Technology, 99(9), 3843-3849.

Banat, I.M., Makkar, R.S., Cameotra, S.S. 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants. Applied microbiology and biotechnology, 53(5), 495-508.

Campos J.M., Stamford T.L.M., Sarubbo L.A., Luna J.M., Rufino R.D., Banat I.M. (2013). Microbial biosurfactants as additives for food industries. Biotechnology Progress. 29: 1097–1108.

Cirigliano M.C and Carman G.M. (1984). Isolation of a bioemulsifier from Candida lipolytica. Applied Environmental Microbiology. 48: 747-750.

Christofi, N., Ivshina I.B. 2002. A review: microbial surfactants and their use in fieldstudies of soil remediation, Journal of Applied Microbiology, 93, 915-929

Čipinytė, V., Grigiškis, S., Šapokaitė, D., & Baškys, E. (2011). Production of Biosurfactants by Arthrobacter Sp. N3, a Hydrocarbon Degrading Bacterium. ENVIRONMENT. TECHNOLOGIES. RESOURCES. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, 1, 68-75.

Detay, M., & Thomas, P. (2018). Les extrémophiles dans leurs environnements géologiques—Un nouveau regard sur biodiversité et sur la vie terrestre et extraterrestre. 1-28.

Déziel E., Leptine F., Milot S., Villemur R. (2000). Mass spectrometry monitoring of rhamnolipds from growing culture of Pseudomonas aeruginosa strain from 57RP. Biochimica et Biophysica Acta. 485: 145-155.

Derfalou, A. S. et A. (2020). Mémoire de Master Mémoire de Master. 2013, 80.

Desai, J. D. and I. M. Banat (1997). "Microbial production of surfactants and their commercial potential." Microbiol Mol Biol Rev 61(1): 47-64.

Eddouaouda, K. (2012). Etude du potentiel biodégradatif de souches isolées du sol de Hassi Messaoud contaminé par du pétrole [Thesis, univ. Blida 1].

Fakruddin, Md .2012. Biosurfactant : Production and Application. Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology, 3 :124,5 pages.

Fekraoui A., Kedaid F Z. (2005). Geothermal Resources and Uses in Algeria. A country Update Report. Proceedings World Geothermal Congress 2005 Antalya, Turkey, 24-29 April 2005.

Fraise, A. P. (2002) Chemical Disinfection in Healthcare Settings: Critical Aspects for the Development of Global Strategies Journal of Hospital Infection, 51(2), 81–85 .

Franzetti B. (2019). Microbes des environnements extrêmes. Encyclopédie de l'environnement, 9p. En ligne ISSN2555-0950.

Ferrera, I. et Reysenbach, A.L. (2007). Thermophiles. Encyclopedia of life sciences, 1-9. Forterre, P., Bergerat, A., Purificacion, L.G. (1996). The unique DNA topology and DNA topoisomerases of hyperthermophilic archaea. FEMS Microbiology Reviews, 18: 237-248

Francy, D.S., Thomas, J.M., Raymond, R.L. et Ward, C.H. 1991. Emulsification of hydrocarbon by surface bacteria. J Industrial Microbiol,8: 237-46.

Gudiña, E. J., Fernandes, E. C., Rodrigues, A. I., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2015). Biosurfactant production by Bacillus subtilis using corn steep liquor as culture medium. Frontiers in Microbiology, 6, 59. doi:10.3389/fmicb.2015.00059

Gayathri A; Madhanraj P; and Panneerselvam A. 2011. Diversity, Antibacterial Activity And Molecular Characterization of Actinomycetes Isolated From Salt Pan Region of Kodiakarai, Nagapattinam DT. Asian J. Pharm. Tech. Vol: 1. N° 3. Pp: 79-81.

GAKPE E., PATTANATHU K. S. M. R. et HATHA M. A.A., 2007 – MicrobialBiosurfactants –Review. J.Mar. Atmos. Res, 3(2): 1-17.

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 Master : Département de Biotechnologie alimentaire. Constantine : Université Mentouri-Constantine, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires (INATAA), 136p .

Gilbert, P., & Moore, L. E. J. (2005) Cationic Antiseptics: Diversity of Action under a Common Epithet Journal of Applied Microbiology, 99(4), 703–715.

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

Hentati D., Chebbi A., Loukil S., Godon J.J., Sayadi S., Chamkha M. (2016) . Biodegradation of fluoranthene by a newly isolated strain of Bacillus stratosphericus from Mediterranean

seawater of the Sfax fishing harbour, Tunisia. Environmental Sciences and Pollution Research. 23: 15088-15100.

Healy, M. G., Devine, C. M., & Murphy, R. (1996). Microbial production of biosurfactants. Resources, Conservation and Recycling, 18(1-4), 41-57.

Johnson DB (2003). Chemical and microbiological characteristics of mineral spoils and drainage waters at abandoned coal and metal mines. Water, Air, Soil poll. 3:47-66.

Jensen MJ, Wright, DN (1997). Chemotherapeutic agents. In: Microbiology for the health sciences, Prentice Hall, New York, 132- 145.

Kebbouche-Gana S., Gana ML., Khemili S., Fazouane-Naimi F., Bouanane N. A., Penninckx M., Hacene H. (2009). Isolation and characterization of halophilic Archaea able to produce biosurfactants. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 36: 727–738.

krahet,M, Antranikian G. Màrki ,H. (1996) .fermentation of extermophilic microorganisms .FE MS microbiology Reviews ;18 (2-3) ,271-285.

Khalil AB (2002). Isolation and characterization of thermophilic bacillus species from thermal ponds in Jordan. Pak. J. Biol. Sci. 5(11):1272- 1273.

Khalil AB, Zarqa MA, Qaryouti MA (2006). Production of antimicrobial agents from thermophilic Yersinia sp.1 and Aeromonas hydrophila isolated from hot spring in Jordan valley. J. Biotechnol. 5(3):252-256.

Laha, Shonali, Berrin,Tansel, Achara, Ussawaruji, kulchai, (2009). “Surfactant–soil Interactions During Surfactant-amended Remediation of Contaminated oils by Hydrophobic Organic Compounds: A Review.” Journal of Environmental Management 90 (1) : 95–100.

Larbi, D.K. (2015). Isolement et caractérisation des souches productrices de lipase. Thèse de doctorat : Microbiologie moléculaire et protéomics. Sidi Bel Abbès : Université DJILLALI LIABES, 165p

López-Velandia, D. P., Torres-Caycedo, M. I., Castro-Gutiérrez, L. T., & Prada-Quiroga, C. F. (2018). Antibiotic resistance: Origins, evolution and healthcare-associated infections. Salud Uninorte, 34(2), 494-505. https://doi.org/10.14482/sun.34.2.615.32

Luna Juliana M, Raquel D, Rufino, Leonie A, Sarubbo, Galba Maria Campos Takaki, (2013). "Characterisation, Surface Properties and Biological Activity of a Biosurfactant Produced from Industrial Waste by Candida Sphaerica UCP0995 for Application in the PetroleumIndustry." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 102: 202–209.

Madigan, M. et Martinko, J. (2007). Brock Biologie des microorganismes. 11ème édition, Pearson Education, 1047p.

McMurry, L. M., Oethinger, M., & Levy, S. B. (1998)Triclosan Targets Lipid Synthesis Nature, 394(6693), 531–532 Salton, M. R. J. (1968)Mechanism of Action of Antibacterial Agents Bacteriological Reviews, 32(4), 302–326.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A., Clark, D.P. (2010). Brock biology of microorganisms. Pearson Education, 18, 577-780.

Magot M, Ollivier B, Patel BKC. (2000). Microbiology of petroleum reservoirs. Antonie van Leeuwenhoek, 77(1), 103–116.

Mayouf, A. Aribi, F. et Chelgham, N. (2020). Evaluation de l'activité enzymatique des souches thermophiles isolées à partir des sources hydrothermales de MEDEA et BOUIRA. Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée. Medea : Université Yahia Fares Medea, 102p.

Minic, Z., Serre, V., Hervé, G. (2006). Adaptation des organismes aux conditions extrêmes des sources hydrothermales marines profondes. Comptes rendus biologies, 329(7), 527-540.

Mehta, R., Singhal, P., Singh, H., Damle, D. et Sharma, A.K. (2016). Insight into thermophiles and their wide-spectrum applications. 3 Biotech, 6(1): 81.

Mulligan C.N. (2009). Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. Current Opinion Colloid Interface Sci. 14: 372–378

Mohan P.K., Nakhla G., Yanful E.K. (2006). Biokinetics of biodegradation of surfactants under aerobic, anoxic and anaerobic conditions. Water Research. 40: 533-540.

Morikawa, M., Daido, H., Takao, T., Murata, S., Shimonishi, Y., & Imanaka, T. (1993). A new lipopeptide biosurfactant produced by Arthrobacter sp. Strain MIS38. Journal of Bacteriology, 175(20), 6459-6466.

Mulligan, C.N., Yong, R.N, Gibbs, B. F. 2001. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil : A review. Engineering Geology, 60(1-4), 371–380.

Muhammad SA, Ahmad S, Hameed A (2009). Antibiotic production by thermophilic Bacillus specie sat-4. Pak. J. Pharm. Sci. 22:339-345.

Mendo S, Faustino NA, Sarmento AC, Amado F, Moir AJ (2004). Purification and characterization of a new peptide antibiotic produced by a thermotolerant Bacillus licheniformis strain. Biotechnol. 26:115. Motta AS, Olivera FC, Brandelli A (2004). Screening for antimicrobial activity among bacteria isolated from the Amazon basin. Braz. J. Microbiol. 35:307-310.

McDonnell, G., & Russell, A. D. (2001) Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance Clinical Microbiology Reviews, 14(1), 147–179.

Motta AS, Olivera FC, Brandelli A (2004). Screening for antimicrobial activity among bacteria isolated from the Amazon basin. Braz. J. Microbiol. 35:307-310.

Muthusamy, K et al (2008)' "biosurfactants: propréties,commercieal production and application"Current Science:736,747.

Neu T.R, (1996). “Significance of Bacterial Surface-active Compounds in Interaction of Bacteria with Interfaces.” Microbiological Reviews 60 (1): 151–166.

Nosocomiales, I. (2000). DESINFECTANTS. 1-87

NICHOLLS T.M., MORGAN A.S. and MORRIS A.J., (2000). Noscomial blood stream infection in Auckland Healthcare hospitals, New Zealand Medical Journal, 113, 96- 98.

Oshima T., Moriya T. (2008). A preliminary analysis of microbial andbiochemical properties of high-temperature compost. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1125:338-344.

Pati, S., Banerjee, S., Sengupta, A., Sarma, J., Shaheen, S., Tenguria, S., & Kumar, A. (2023). Adaptation strategies of thermophilic microbes. Dans Bacterial Survival in the Hostile Environment (pp. 231–249). Elsevier

Pacwa-Płociniczak M., Płaza G.A., Piotrowska-Seget Z., Cameotra S.S. (2011). Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. International Journal of Molecular Sciences. 12: 633–654.

Parra, J. L., Guinea, J., Manresa, M. A., Robert, M., Mercadé, M. E., Comelles, F., & Bosch, M. P. (1989). Chemical characterization and physicochemical behavior of biosurfactants. Journal of the American Oil Chemists Society, 66(1), 141-145.

Pereira J.F.B., Gudiña E.J., Costa R., Vitorino R., Teixeira J.A., Coutinho J.A.P. et Rodrigues L.R. (2013). Optimization and characterization of biosurfactant production by Bacillus subtilis isolates towards microbial enhanced oil recovery applications. Fuel. 111: 259–268.

Pandey, A., Dhakar, K., Sharma, A., Priti, P., Sati, S. et 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. Ann Microbiol, 65: 809-816.

Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2003). Microbiologie. De Boeck.

Rahman, P. K. S. M. and E. Gakpe (2008). "Production, Characterisation and Applications of Biosurfactants-Review." Biotechnology(Faisalabad) 7(2): 360-370.

Raza, Z.A., Rehman, A., Khan, M.S., & Khalid, Z.M. (2007). Improved production of biosurfactant by a Pseudomonas aeruginosa mutant using vegetable oil refinery wastes. Biodegradation, 18(1), 115–121.

Ron E.Z, Rosenberg E, (2002). Biosurfactants and oilremediation. Current Opinion in Biotechnology, 3 : 249-252.

Salihu, A., et al. (2009). "An investigation for potential development on biosurfactants." Biotechnol Mol Biol Rev 3(5): 111-117

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

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. Extremophiles Handbook, 497- 520.

Sarubbo L.A., Farias C.B., Campos-Takaki G.M. (2007) .Co-utilization of canola oil and glucose on the production of a surfactant by Candida lipolytica. Current Microbiology. 54: 68-73.

Sarmiento, F., Peralta, R. et Blamey, J.M. (2015). Cold and hot extremozymes: industrial relevance and current trends. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 3(148).

Santos D.K.F., Rufino R.D., Luna J.M., Santos V.A., Sarubbo L.A. (2016). Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st Century. International Journal of Molecular Sciences. 17: 401-432. .

SATPUTE S.K., BHAWSAR B.D., DHAKEPHALKAR P.K., CHOPADE B.A., (2008). Assessment of different screening methods for selecting biosurfactant producing marine bacteria. Indian Journal Marine Science, 37 (3): 243-250

SAMANTA P., PAL A., MANDAL C., SINHA A., LALEE M., DAS S., KALTY and MITRA D., (2012). Estimation of biosurfactant Activity of an Alkaline Protease producing bacteria isolated from Municipal Solid Waste, Central European Journal of Experimental Biology, 1 (1): 26-35.

Sidkey, N. M., Mohamed, H. F., & Elkhouly, H. I. (2016). Evaluation of different screening methods for biosurfactant producers isolated from contaminated Egyptian

Surucu, G1999. ‘‘crozthréquirements of thermophilic aerobic microorgannes in mexed cultures for the tremtent of strong Wastes.” water science technologie 41:53-60.

SNEHA K.S., PADMAPRIYA B. and RAJESHWARI T., (2012). Isolation and screening of biosurfactants produced by Pseudomonas aeruginosa using soya bean oil assubstrate, International Journal of Advance Pharmaceutical and Biological Archives, 3 (2), 321-325

Talaro A, Talaro, K (1996). Foundations in microbiology. W.M. Brown, New York, pp. 840-841.

Vavitsas, K., Glekas, P.D. et Hatzinikolaou, D.G. (2022). Synthetic Biology of Thermophiles: Taking Bioengineering to the Extremes? App. Microbiol. 2, 165-174.

Vijayakumar S and Saravanan V. (2015). Biosurfactants-types, sources and applications. Research Journal of Microbiology. 10: 181-192.

Volkering, F. A, Breure M, Rulkens W. H, (1997). "Microbiological Aspects of Surfactant Use for BiologicalSoilRemediation." Biodegradation 8 (6): 401–417.

Wang Q., Chen S., Zhang J., Sun M., Liu Z., Yu Z. (2008). Co-producing lipopeptides and poly-[gamma]-glutamic acid by solid-state fermentation of Bacillus subtilis using soybean and sweet potato residues and its biocontrol and fertilizer synergistic effects. Bioresource Technology. 99: 3318–3323.

Walter, V., Syldatk, C., & Hausmann, R. (2010). Screening concepts for the isolation of biosurfactant producing microorganisms. In Biosurfactants(pp. 1-13). Springer, New York, NY.

Woese R. The must be prokaryote somewhere: Microbiology's search for it self. Microbiological reviews, American of microbiology. pp: 1-9 (1994).

Weber A. P. M., Oesterhelt C., Gross W., Brautigam A., Imboden L. A., Krassovskaya I, EST-analysis of the thermo-acidophilic red microalga Galdieria sulphuraria reveals potential for lipid A biosynthesis and unveils the pathway of carbon export from rhodoplasts. 55: 17-32 (2004).

Yalaoui-Guellal D. (2017). Production des biosurfactants par des souches hydrocarbonoclastes isolées des sédiments du bassin versant de la Soummam de Bejaia, Algérie. Thèse de doctorat : Microbiologie. Université A. Mira-Bejaia. 126p

ANNEX



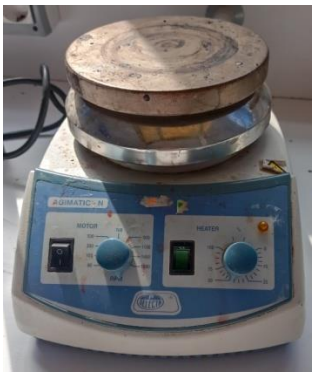
Centrifigeuse



Vortex



Etuve



Agitateur



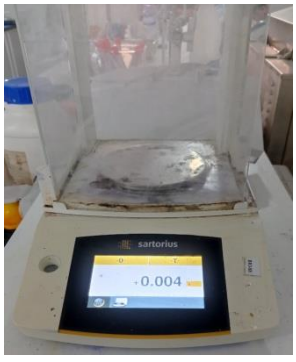
Microscope Electronique



Autoclave (stérilisateur).



Bain mari



Balance



PH métre.

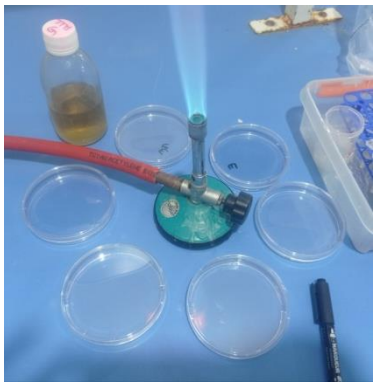
ANNEX



Densitomètre



Réfrigérateur



Bec Bunsen

ANNEX

Annex 1: préparation de milieux de culture

THERMUS THERMOPHILUS MEDUIM (TTM)

Extrait de levure .....4g Protéase peptone..... 8g

Na cl 2g

L'eau distillé 1000ml

Annex 2: coloration de gram

Réactifs

Violet de gentiane

Violet de gentiane..... 1g

Alcool éthylique à 95% 10ml
Phénol..... 2g

Eau distillée..... 100ml

Lugol de Gram

Iodure de potassium.....1g
Iode..... 1g

Eau distillée..... 300ml

Fushine de ziehl:

Fushine..... 1g

Alcool éthylique à 95.....10ml

Phénol ajouté à 100ml d'eau distillée.....5g

ANNEX

Annex 3 : Milieux de l'activité antimicrobienne

MULLER HINTON (MH)

Muller Hinton..... 38g

Eau distillée..... 1000ml

Annex 4 : Milieux de biosurfactant

LURIA BERTANI

Tryptone..... 10g/L

Extrait de levure ..... 5 g/L

NaCl.....10g/L

Ajusté PH à 7.0±0.2

MILIEU MINIMUM

NH4Cl.....0.4g/L

K2HPO4…..... 0.3g/L

NaCl.....10g/L

MgCl2….....0.33g/L

CaCl2….....0.05g/L

Extrait de levure 0.1g/L

Oligoéléments 1ml

Ajusté PH à 7.0/7.5

Annex 5 :

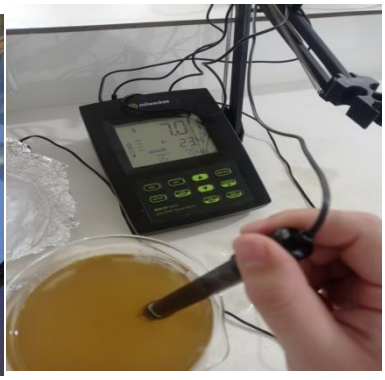
ANNEX



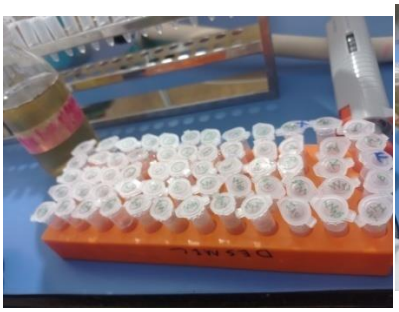
Préparation de milieux BN



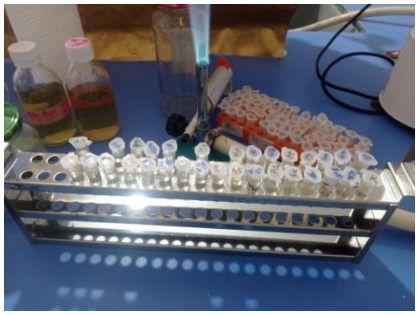




Preparation de milieux TTM







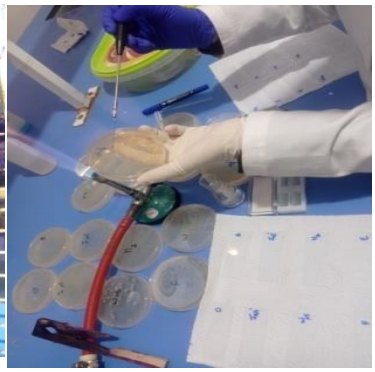
Souches bactériennes les souches +BN(revivication).

ANNEX



Ensemencement des souches thermophiles dans le milieu TTM Gélose.





Coloration de Gram.

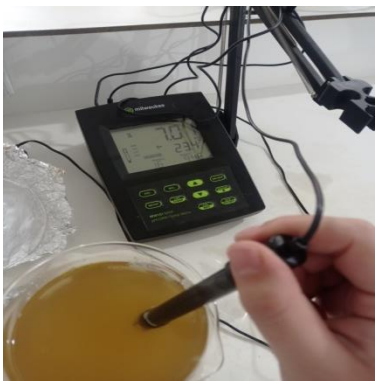


DO des suspensions bactériennes des souches de références.

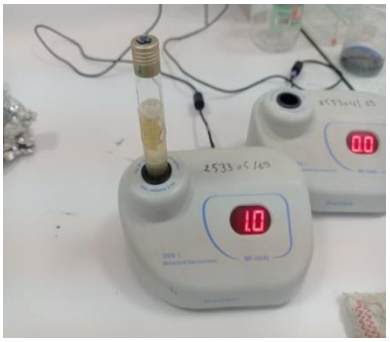


Activité antimicrobienne.

ANNEX

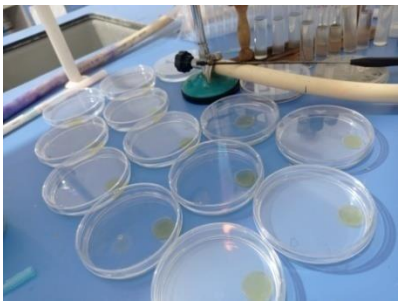
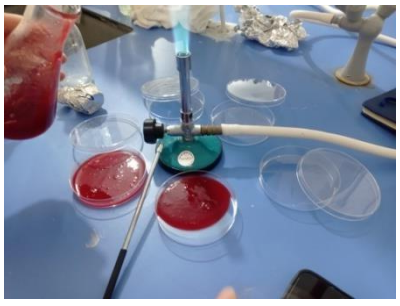
Préparation des milieux MM et LB.



Préparation de préculture DO= 1.




Préparation de la culture + l'incubation 55°C (48h, 150tr /mn).

Test de déplacement d'huile de moteur+ test d'hémolyse de sang.

ANNEX





Extaction des biosurfactants