

**Université de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie**

# **Chapitre 2**

# **Microorganismes d'intérêt industriel**

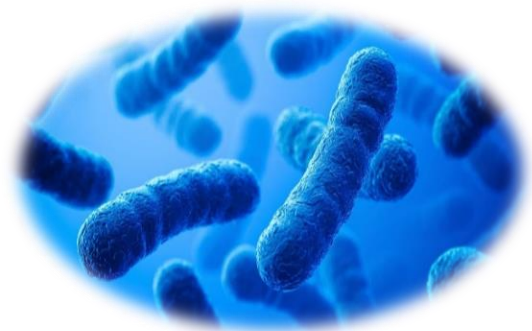
**Niveau: Licence L3 Microbiologie  
Dr. DJINNI I.  
2023-2024**

### Définition

Les microorganismes d'intérêt industriel sont des organismes microscopiques utilisés dans divers secteurs industriels en raison de leurs capacités uniques à produire des substances utiles ou à réaliser des processus spécifiques.

Leur utilisation en industrie repose sur leur diversité biologique, leur adaptabilité et leur potentiel à être manipulés génétiquement pour répondre aux besoins industriels.

### Microorganismes



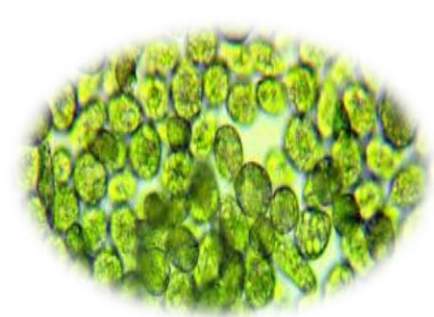
**Bactéries**



**Levures**

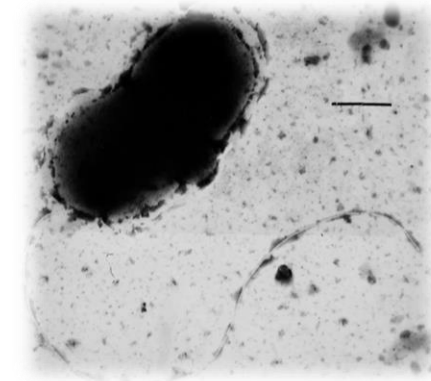
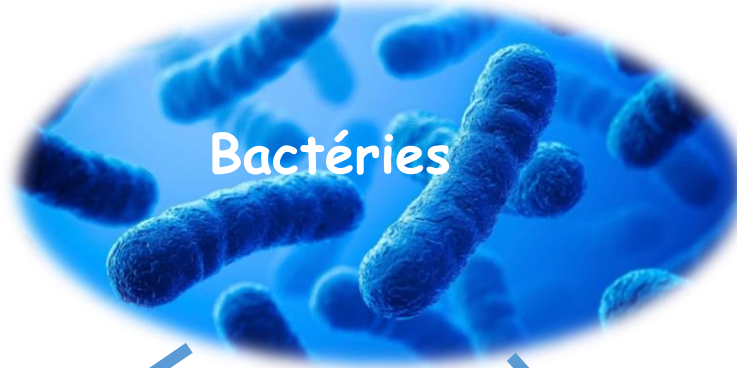


**Moisissures**



**Microalgues**

## Chapitre 2 Microorganismes d'intérêt industriel



**Firmicutes : GC% < 55%    GRAM +**  
**Actinobactéries : GC% > 55%**

**GRAM -    Protéobactéries**

- Cellules procaryotes, dépourvues de noyau.
- Plusieurs bactéries peuvent être utilisées dans le domaine industriel, telles que **les actinobactéries** dont le genre *Streptomyces*, qui fournit à lui tout seul 70% des antibiotiques utilisés.
- Les **bactéries lactiques**, telles que *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, sont utilisées pour la fabrication du yaourt, alors que les espèces, *Corynebacterium glutamicum* et *Propionibacterium shermanii*, sont caractérisées par leurs pouvoir de sécréter l'acide glutamique et la vitamine B12.

### Exemples

Les bactéries du genre *Escherichia coli* sont souvent utilisées comme hôtes pour la production de protéines recombinantes, tandis que les bactéries du genre *Bacillus* sont utilisées dans la production d'enzymes industrielles telles que les amylases et les protéases.

### Inconvénients d'utilisation

Les bactéries à Gram négatif, bien qu'elles présentent des avantages significatifs dans de nombreux domaines, comportent également certains inconvénients lorsqu'elles sont utilisées en industrie.

#### Contamination croisée

Les bactéries à Gram négatif ont la capacité de contaminer facilement les environnements de production, ce qui peut entraîner des problèmes de qualité des produits finaux. Leur présence peut entraîner des coûts supplémentaires pour le contrôle et la gestion de la contamination.

#### Risque de contamination alimentaire

Certaines bactéries à Gram négatif, telles que *Salmonella* et *Escherichia coli*, sont des agents pathogènes alimentaires courants.

Leur présence dans les aliments peut entraîner des maladies d'origine alimentaire chez les consommateurs.

#### Production de toxines

Les bactéries Gram négatif contiennent des endotoxines qui sont libérées dans l'organisme après la lyse.

#### Nettoyage et désinfection

En raison de leur résistance à de nombreux agents antimicrobiens, les bactéries à Gram négatif peuvent être difficiles à éliminer des surfaces et des équipements industriels. Cela nécessite des protocoles de nettoyage et de désinfection rigoureux pour minimiser le risque de contamination.





**Levures**

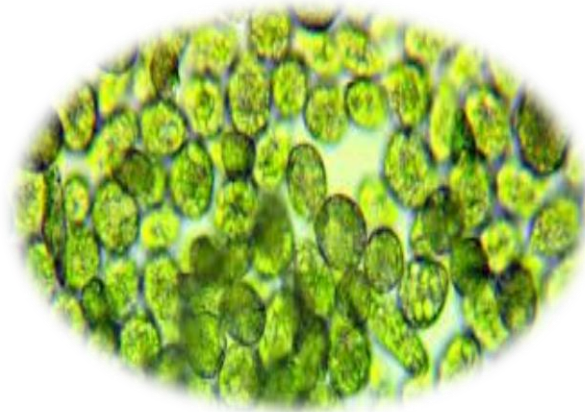
- Les levures, en particulier l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*, sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la fermentation de matières premières telles que le sucre et les céréales pour produire de l'alcool, de la bière et du pain.
- Elles sont également utilisées dans la production de bioéthanol à partir de biomasse lignocellulosique.
- Taille supérieure à celle des bactéries



**Moisissures**

- Certains champignons, tels que les espèces de *Penicillium* et *Aspergillus*, sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour la production d'antibiotiques tels que la pénicilline et la cyclosporine.
- Les champignons sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour la production de fromages et d'enzymes.
- *Aspergillus niger*, est une moisissure utilisée pour la production industrielle de l'acide citrique.

### Microalgues



- Sont des microorganismes photosynthétiques eucaryotes ou procaryotes unicellulaires ou pluricellulaires.
- Les cyanobactéries du genre *Arthrospira* sont utilisées comme compléments alimentaires pour lutter contre la malnutrition sous forme de spiruline alimentaire (spirulina)
- Le principal avantage de la culture des microalgues est la source de carbone :  $CO_2$
- La richesse des microalgues en lysine
- Sont de plus en plus utilisées en industrie pour la production de biocarburants, de pigments, de compléments alimentaires et de produits chimiques.
- Peuvent être cultivées de manière efficace à grande échelle dans des bioréacteurs.

### Propriétés des microorganismes d'intérêt industriel

Les microorganismes d'intérêt industriel possèdent un ensemble de propriétés qui les rendent précieux pour une variété d'applications dans différents secteurs industriels.

- Outre la caractéristique de produire la substance d'intérêt, un microorganisme approprié à un procédé industriel doit pouvoir **croître et sécréter cette substance dans des cultures à grande échelle**.
- Production de spores ou des cellules végétatives facilitant l'inoculation de grands fermenteurs.
- Croissance rapide et production des métabolites désirés sur une échelle de temps courte.
- Croissance dans un milieu de culture relativement bon marché et disponible en grandes quantités (microorganismes non exigeants).
- Microorganismes non pathogène (pas pathogène pour l'homme, les animaux et les végétaux, pas de production de toxines).
- Microorganismes manipulables génétiquement pour augmentation des rendement

### Moyens d'obtention des microorganismes d'intérêt industriel



Obtention directement pures à partir d'organismes de grandes collections internationaux de microorganismes

American Type Culture Collection ATCC (Etats Unis)



Centre de ressources biologiques, Institut Pasteur (France)



Westerdijk Fungal Biodiversity Institute: Centraal bureau voor Schimmelcultures CBS (Pays Bas)



WESTERDIJK  
FUNGALBIO  
DIVERSITY  
INSTITUTE  
Incorporating the CBS and the NCCB Culture Collections



Isolement de souches à partir de milieux naturels (eau, sol matière organique)

Developpement de techniques d'isolement en plus de techniques classiques

Les techniques modernes reposent sur la combinaison, en une seule étape, rapide et efficace, l'isolement et la sélection des microorganismes d'intérêt, **criblage ou screening**

Ces collections fournissent des souches pour l'enseignement, la recherche et l'industrie



### Isolement et sélection de souches à intérêt industriel

De nombreuses techniques et méthodes peuvent être mises en œuvre pour l'isolement et la sélection de souches d'intérêt.

La technique est adaptée en fonction de l'activité biologique recherchée

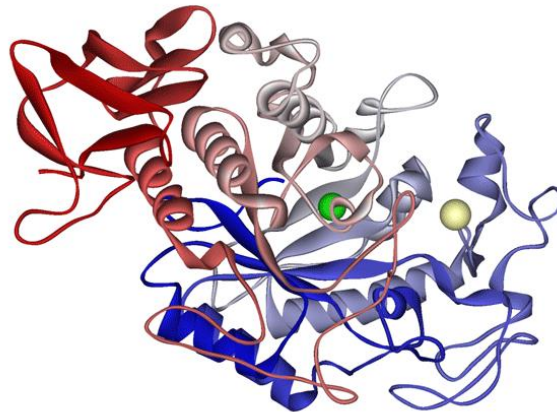
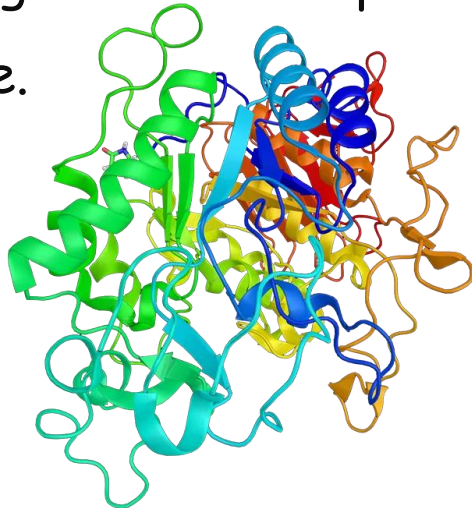
Isolement et  
sélection de souches  
productrices  
d'enzymes

Isolement et  
sélection de souches  
productrices  
d'antibiotiques

# Isolement et sélection de souches productrices d'enzymes

## Enzymes

Les enzymes sont des protéines spécialisées présentes dans les cellules vivantes, agissant comme des catalyseurs biologiques pour accélérer les réactions chimiques spécifiques. Elles jouent un rôle crucial dans la régulation et la promotion des réactions biochimiques nécessaires à la vie.



### Isolement et sélection de souches productrices d'enzymes

- Le choix du microorganisme producteur d'enzymes est primordial
  - Bactéries
  - Champignons
  - Archées

#### Enzymes bactériennes

- *Bacillus*: Amylases, glucanase, proteases
- Actinobactéries: *Streptomyces*,  
*Nocardiosis*: Cellulases, xylanases,  
lipases, proteases,

#### Enzymes fongiques

##### Moisissures

- Aspergillus orizaea*: Amylases, protéases
- Aspergillus niger*: cellulases, glucanases
- Rhizopus*: lipases
- Mucor*: protéases

##### Levures

- Saccharomyces cerevisiae*: Invertase
- Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*: Lactases

### 1. Isolement

- La production d'enzymes est induite par la présence de substrat, de ce fait, les microorganismes producteurs d'enzymes sont recherchés dans les endroits où le substrat est abondant.

#### Exemple

Les microorganismes producteurs de cellulases sont recherchés dans les sols forestiers riches en cellulose

Les producteurs de lactases sont recherchés dans les produits laitiers...

- Dans le cas où l'on recherche des propriétés spécifiques chez les enzymes telles que la thermostabilité, il faut cibler des sites appropriés tels que les sources thermales.
- Le principe de la sélection repose sur l'utilisation de milieux de culture spécifiques et sélectifs, selon le microorganisme producteur ciblé: champignons, actinomycètes...

**Le milieu de culture doit contenir le substrat de l'enzyme comme seule source de carbone**

### 2. Mise en évidence de l'activité enzymatique des souches sur milieu solide

Souche pure isolée

Extrait enzymatique

1. Culture de la souche pure isolée sur milieu liquide approprié

2. Récupération du surnageant ou du filtrat de culture après centrifugation ou filtration dans le cas où l'enzyme est exocellulaire

3. Mise en évidence de l'activité enzymatique sur milieu gélosé, par la diffusion de l'enzyme à travers la gélose sous forme d'un halo qui est proportionnel à l'activité enzymatique

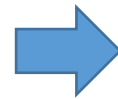


### Exemple : Mise en évidence de l'activité cellulasique

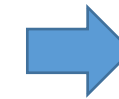
Les cellulases sont des enzymes inductibles qui sont synthétisées par des microorganismes lors de leur croissance sur des matières cellulosiques (Gaur et al., 2015).

#### Milieu de culture

Carboxymethyl cellulose CMC.....20g.  
Extrait de levure.....5g.  
Agar.....15g.  
Eau distillé.....1000ml



Culture de la souche pure isolée à la surface du milieu de culture

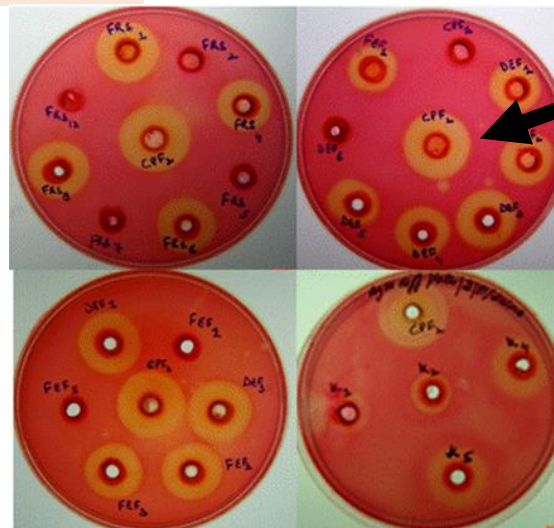


Incubation à la température et temps idéaux



Surnagent de culture (50-100µL) par puit

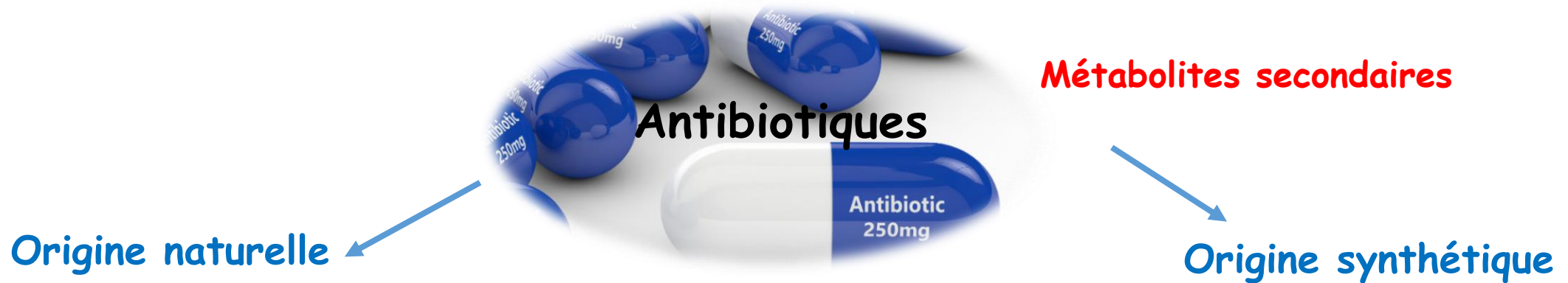
- Mise en évidence de l'activité cellulasique: recouvrir la boîte avec un révélateur coloré: le rouge cango (1%)
- Apparition d'un halo orange sur fond rouge



### Isolement et sélection de souches productrices d'antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques produites naturellement par des micro-organismes, principalement des bactéries et des champignons, ou synthétisées artificiellement en laboratoire, qui ont la capacité d'inhiber la croissance ou de détruire d'autres micro-organismes, en particulier des bactéries pathogènes





### Antibiotiques naturels

- 70% produits par des microorganismes
- 16% produits par des végétaux supérieurs
- 6% par des moisissures
- 8% par des animaux

### Antibiotiques d'origine microbienne

- 80% produits par des bactéries
- 20% par des champignons: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*

### Antibiotiques d'origine bactérienne

70% produits par les actinobactéries  
30% autres bactéries  
Gram-: *Pseudomonas*  
Gram-: *Bacillus*: polymixine, bacitracine



- 80% produits par le genre *Streptomyces*
- 20% par des actinobactéries rares
- Exemple: *Saccharothrix*, *Micromonospora*, *Spirillospora*, *Streptosporangium*...



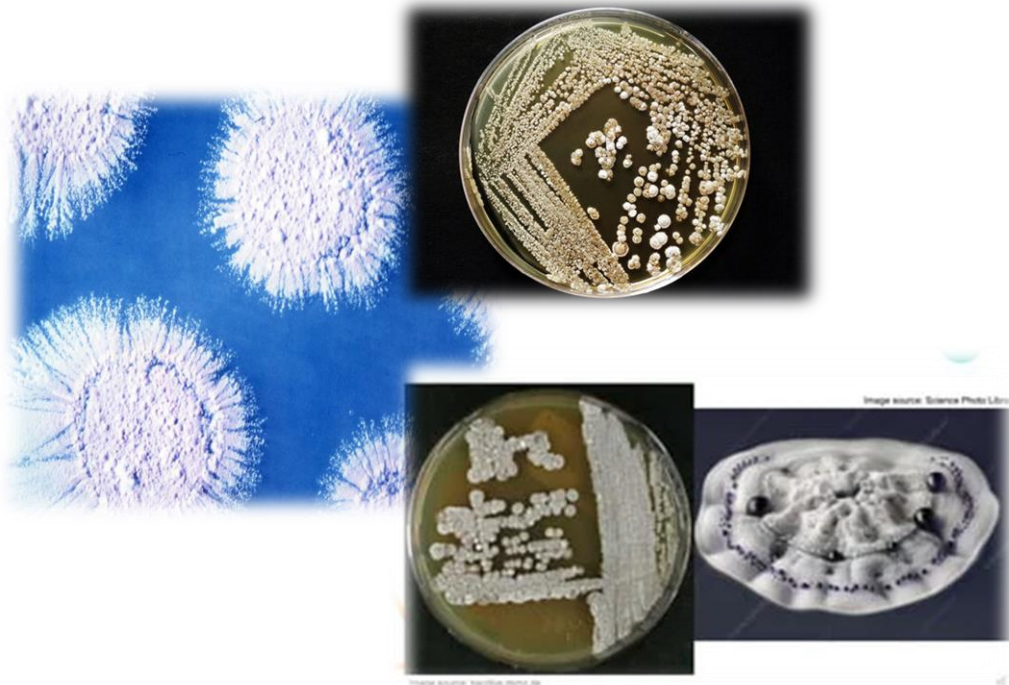
## Chapitre 2 Microorganismes d'intérêt industriel

- Les antibiotiques d'origine naturelle sont produits en majorité par des microorganismes

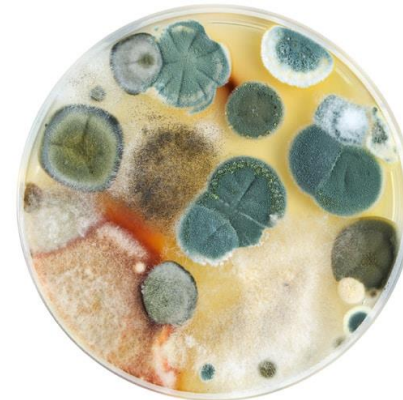
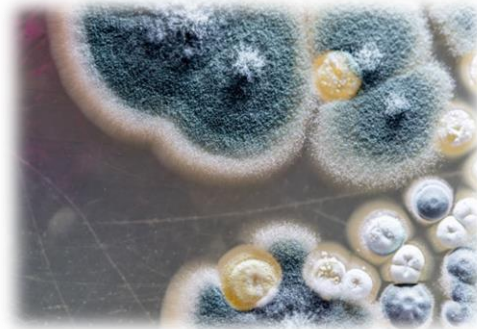


### Actinobactéries 70%

Parmi les groupes bactériens les plus étudiés pour le criblage de nouvelles molécules actives (environ 70% du totale des antibiotiques décrits).



### Champignons (20%)

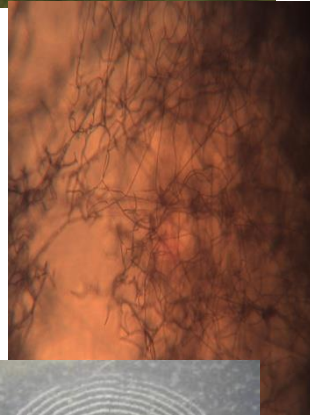
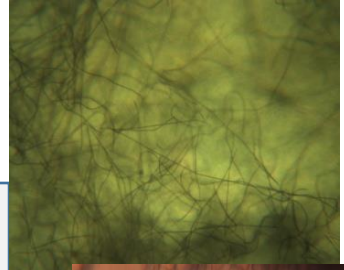
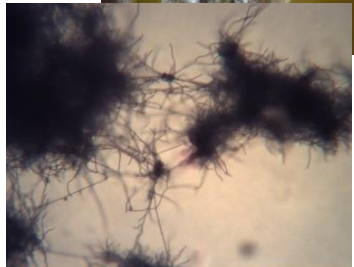
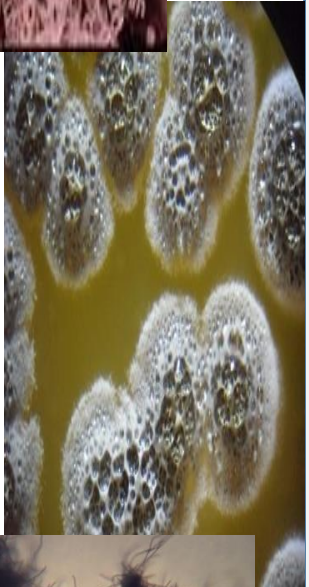


### Bactéries (10%)



### Les actinobactéries: des microorganismes d'importance industrielle

- Gram positif, Aérobie certaines sont facultatives ou anaérobies strictes, ou microaérophiles telles que les genres *Rhodococcus*, *Actinomyces* et *Agromyces*
- Non mobiles
- GC%: 70-80
- Classés dans l'ordre *Actinomycetales*
- Formation de mycéliums aérien et du substrat
- Saprophytes quelques uns sont pathogènes (*Mycobacterium tuberculosis*, *Actinomyces bovis*)
- Ubiquitaires ( $10^6$  à  $10^7$  UFC/g sol soit 10-20% de la microflore tellurique),
- Grande importance du point de vue écologique et biotechnologique
- Genre *Streptomyces* prédomine 80-90%
- Croissance avec un temps de génération moyen de 2 à 3 heures, plus lentes que celle des bactéries





### Historique

La taxonomie a progressé en fonction du développement des connaissances. Elle s'est d'abord fondée sur des critères essentiellement physiologiques et morphologiques

- **Période 1:** Découverte par COHN en 1875 et jusqu'à 1964

L'identification des genres se basait exclusivement sur la description des caractères morphologiques uniquement

- **Période 2:** 1964-1980

Introduction des critères chimiques (composition chimique de la paroi)

En 1965, H. A. et M. P. Lechevalier proposèrent que la classification des Actinomycètes soit fondée sur des caractères morphologiques et chimiques. Ce principe est d'une grande utilité, permettant de grouper les Actinomycètes en genres faciles à caractériser. Les critères chimiques utilisés dans la classification des Actinomycètes touchent surtout à la composition de leurs parois cellulaires et de leurs lipides.

- **Période 3 :** de 1971

Introduction de la taxonomie numérique, caractères biochimiques et physiologiques: 150 tests)

- **Période 4:** Utilisation de la biologie moléculaire

Identification phylogénétique, ADN ribosomal 16S, hybridation ADN/ADN

### Classification

Selon le Bergey's Manual 2012, les actinobactéries

15 Ordres

43 Familles

203 genres

Règne: Procaryotes  
Division: *Firmicutes G+*  
Classe: *Thallobacteria (G+ ramifiées)*  
Ordre: *Actinomycetales*

### Taxonomie

- Elle est basée sur plusieurs critères

Morphologiques

Chimiques

Physiologiques

Moléculaires

### Critères morphologiques

Caractères  
macromorphologiques

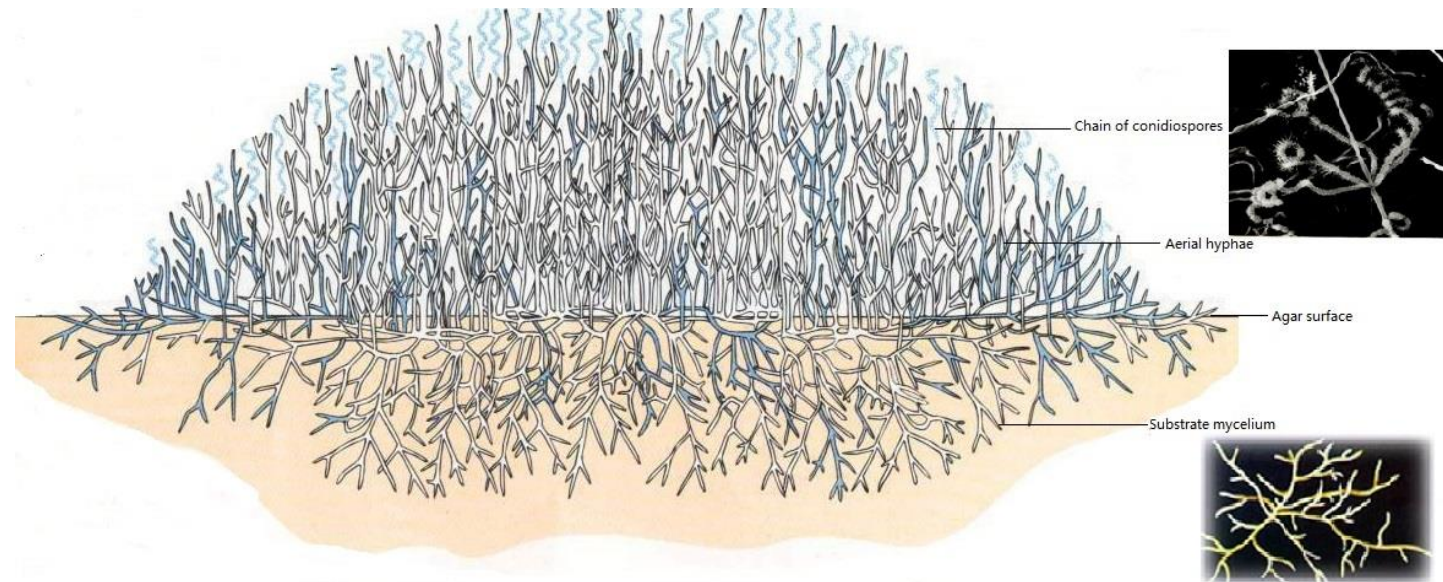
Caractères  
micromorphologiques

Les caractères culturels contribuent parfois à différencier entre les genres

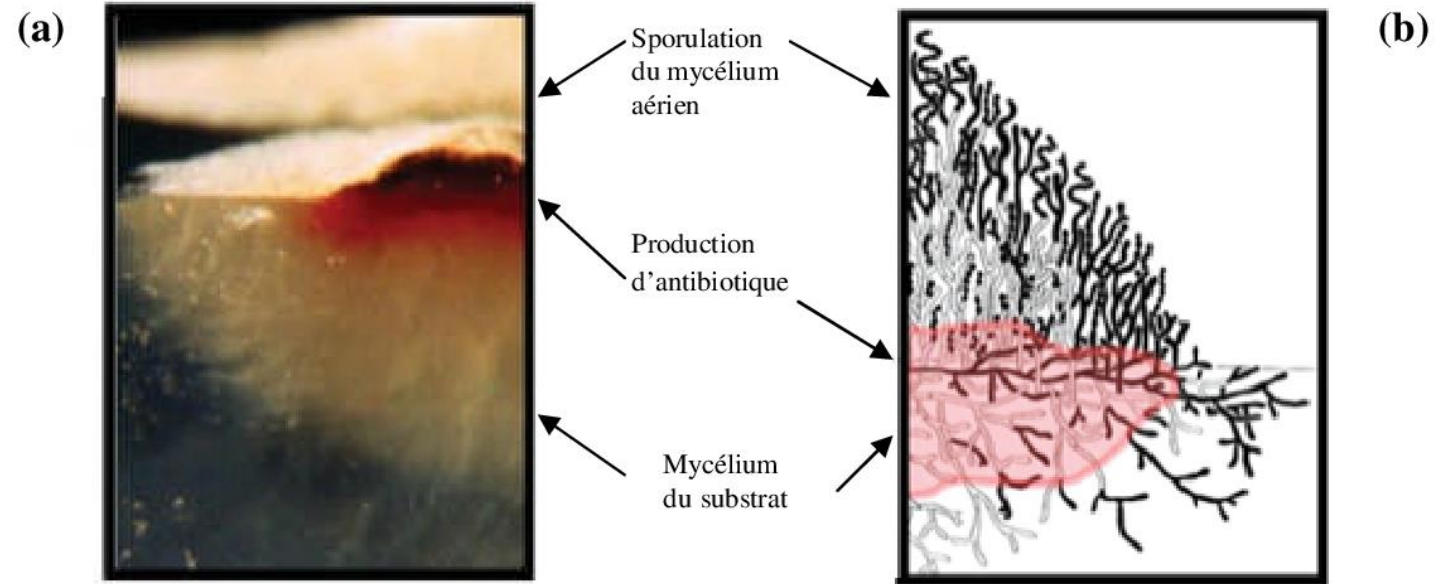
**Les caractères importants :**

- La présence et la couleur du mycélium aérien (MA) et du substrat (MS)

Parmi les formes mycéliennes, on distingue celles qui ne forment qu'un mycélium de base (mycélium du substrat ou végétatif) poussant dans le milieu de culture et celles qui élaborent un mycélium aérien issu du mycélium du substrat.



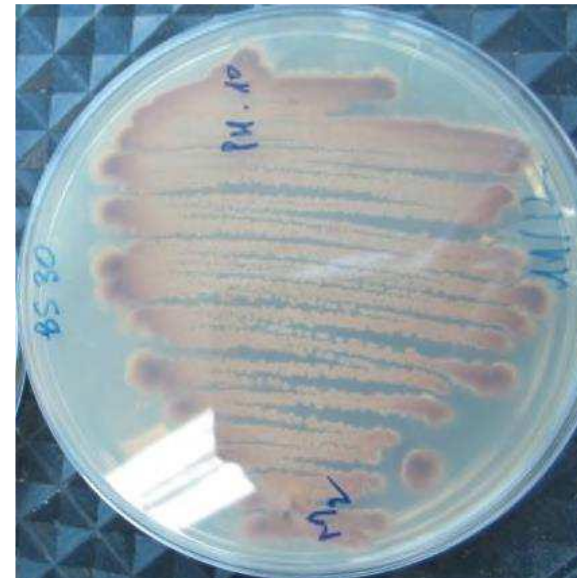
## Chapitre 2 Microorganismes d'intérêt industriel



**Mycélium aérien  
(MA)**



**Mycélium du substrat  
(MS)**

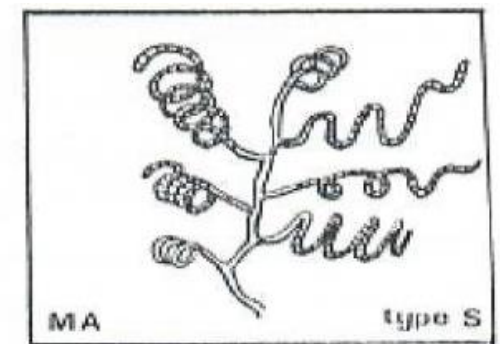
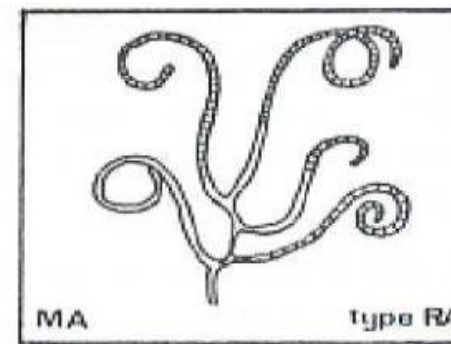
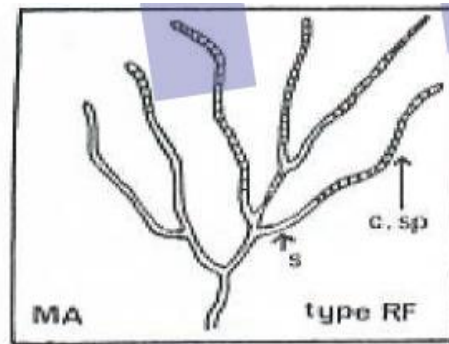




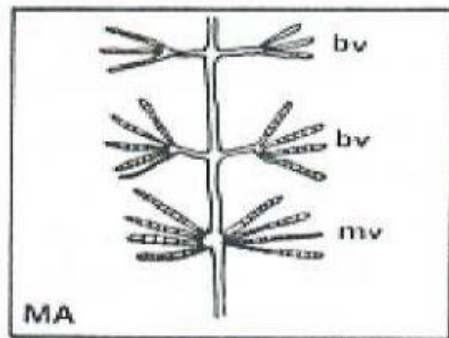
## Chapitre 2 Microorganismes d'intérêt industriel

### Caractères micromorphologiques

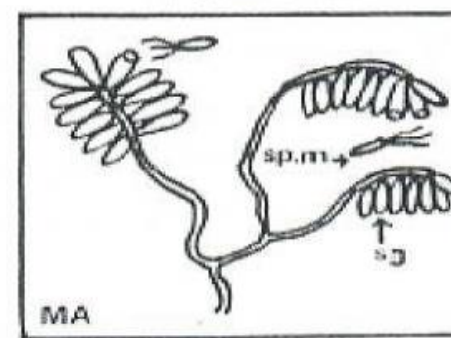
- Ces caractères englobent la production de spores, leurs formes, leurs mobilités, aspects de leurs surfaces, leurs dispositions sur les hyphes et leurs nombres... etc
- Fragmentation ou non du MS
- La présence de sporanges sur le MA (*Streptosporangium*, *Spirillospora*) ou sur le MS (*Actinoplanes*, *Dactylosporangium*)
- La forme et la taille des sporanges
- Le nombre de spores par sporanges
- La longueur des sporangiophores



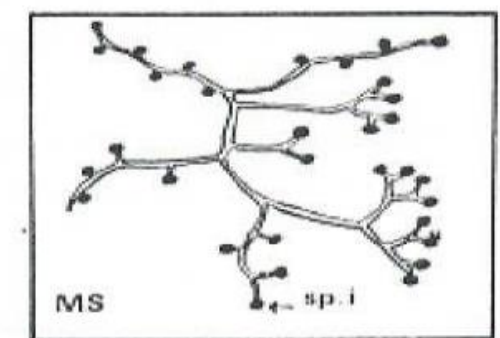
*Streptomyces*



*Streptoverticillium*



*Planomonospora*



*Micromonospora*

MA, mycélium aérien; MS, mycélium du substrat; RF, *Rectus Flexibilis* (chaînes de spores droites à flexueuses); RA, *Retinaculum Apertum* (chaînes en crochets ou en boucles fermées); S, *Spira* (chaînes spiralées)



### Critères chimiotoxonomiques

- Les méthodes chimiotoxonomiques ont un grand impact sur la classification des actinobactéries pour distinguer entre les genres.

La composition de la paroi en **acides aminés**, en **sucres cellulaires et pariétaux**, en **lipides membranaires et pariétaux** (acides gras, ménaquinones (composés lipidiques membranaires), les phospholipides et les acides mycoliques).

#### Acides aminés

- Acide diaminopimélique (DAP): analogue d'acide aminé
- Lysine
- Ornithine
- Glycine
- Acide diaminobutyrique (DAB)

#### Sucres cellulaires et pariétaux

Arabinose, xylose → *Actinoplanes*  
Arabinose, galactose → *Nocardia*  
Madurose → *Actinomadura*

Les actinobactéries sont classées sous forme de chimiotypes en fonction de leur composition en acides aminés et sucres

#### Lipides

Les actinobactéries possèdent tous le **phosphatidyl inositol**  
Selon les genres, on retrouve:  
Phosphatidyl choline  
Phosphatidyl glucosamine  
Phosphatidyl glycérol

Les actinobactéries sont classées en 4 groupes en fonction de leur composition en phospholipides

Groupe	Composants diagnostiques	Exemple
Type I	L-DAP+glycine	<i>Streptomyces</i>
Type II	Meso-DAP+glycine	<i>Micromonospora</i>
Type III	Meso-DAP	<i>Actinomadura</i>
Type IV	Meso-DAP+ arabinose+galactose	<i>Nocardia</i>

Le groupe IV fournit un bon exemple de l'utilisation des lipides dans la taxonomie des Actinomycètes.

Dans ce groupe, on trouve les *Mycobacterium*, contenant des acides mycoliques de grande taille (80 atomes de carbone), les *Nocardia* avec des acides semblables de taille moyenne (50 atomes de carbone), les *Corynebacterium* avec de petits acides mycoliques (30 atomes de carbone) et les *Amycolata* sans acides mycoliques.

### Les acides mycoliques

Ce sont des lipides complexes qu'on retrouve chez certains chimiotypes

Nocardioformes

*Nocardia*

*Mycobacterium*

*Corynebacterium*

### Les acides gras

Les acides gras peuvent refléter une sorte de carte d'identité de la souche (phospholipides: triglycérides)

### Acides nucléiques

Coefficient de Chargaff (GC%)

*Mycobacterium* (60-70%)

*Actinomyces* (63-73%)

*Nocardia* (67-69%)

*Streptomyces* (69-76%)

### Critères moléculaires

- Les études moléculaires sont réalisées pour retracer les parentés phylogénétiques des souches et pour la détermination des espèces

- *Sequençage de l'ADN ribosomique 16S*

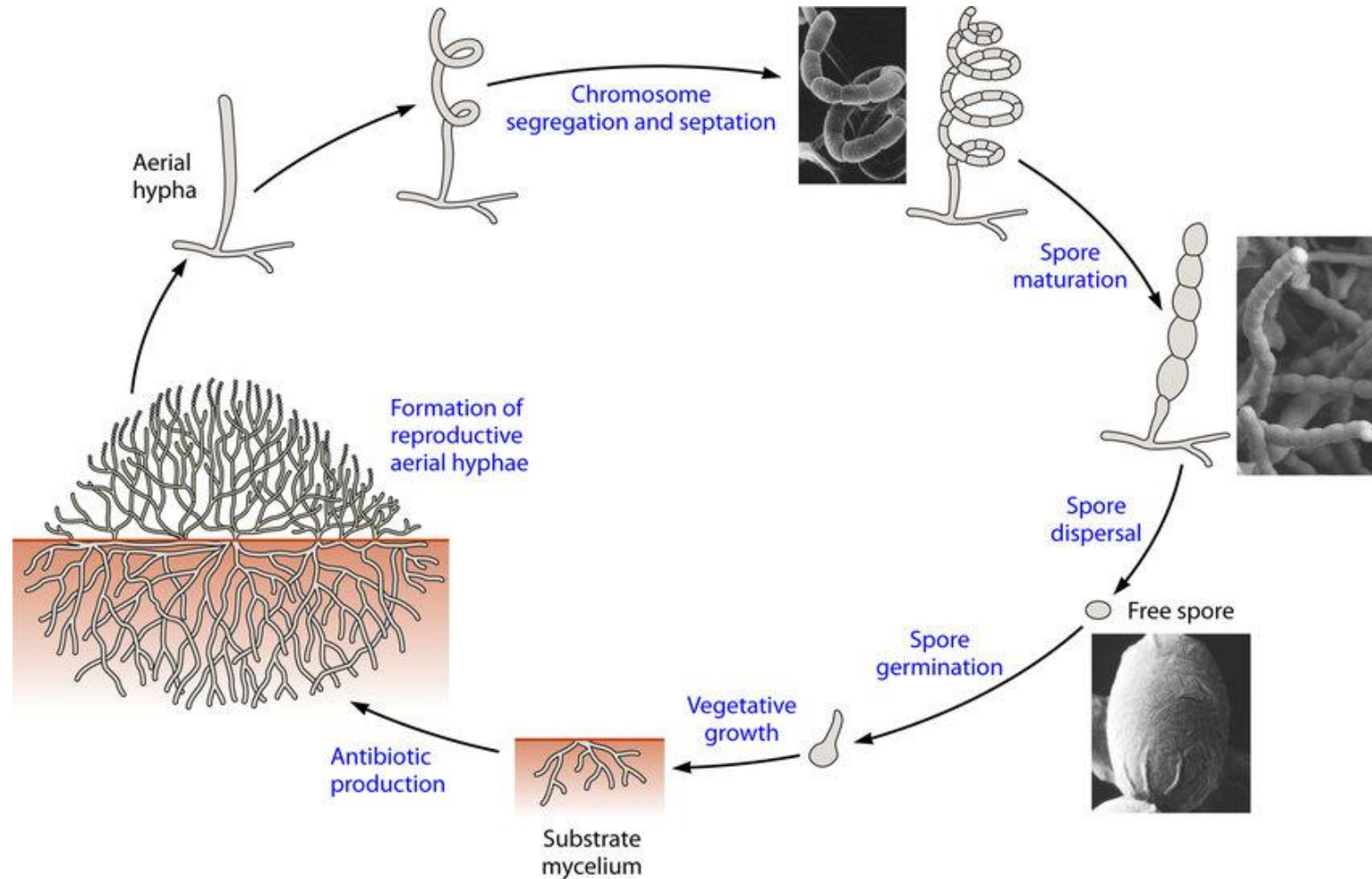
*C'est la méthode la plus utilisée pour mettre en évidence la parenté phylogénétique chez les actinobactéries*

- *Hybridation ADN-ADN*

*La réassociation ADN-ADN est utilisée pour l'identification des espèces en comparaison avec celles déjà décrites. Deux espèces ne sont différentes entre elles que si elles ont un taux de ressemblance inférieur à 70%.*



### Cycle de développement du genre *Streptomyces*



Cycle de développement du genre *Streptomyces* sur milieu solide

## Isolement et sélection d'actinobactéries productrices d'antibiotiques

### 1. Sources d'isolement

Les actinobactéries sont universellement ré pondues (ubiquitaires):

**Sol, sédiments, eau, aliments** → sources riches en matière organique



Actinobactéries courants  
Genre: **Streptomyces**

**Sol pauvre** (desert), **milieux extrêmes** (eaux chaudes, eaux salées)



Actinobactéries extrêmophiles (rares)  
Genre: **Micromonospora...**

### 2. Isolement

- Prendre 10 g de terre/100 mL d'eau physiologique → préparation de la solution mère
- Pour isoler des actinobactéries, il est nécessaire d'utiliser un milieu sélectif.  
Utilisation de **la chitine, acide humique vitamines B** comme seule source de carbone qui est capable d'être assimilée par les actinobactéries et les moisissures.
- Afin d'éliminer les moisissures, on utilise un agent antifongique (cycloheximide, nystatine)
- Dans le cas où on veut sélectionner des genres particuliers (rares), on utilise les propriétés de résistance.

#### Exemple

**Tétracycline** permet de sélectionner le genre *Nocardia*

**Novobiocine**: *Micromonospora*, *Actinoplanes*

### 3. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne

Découverte des antibiotiques par la méthode traditionnelle



**Criblage**

Tester la production de composés actifs à l'encontre des germes cibles (bactéries, moisissures et levures), par les souches isolées

**Test d'antagonisme**

Utilisation de la souche pure directement



Technique des stries croisées

Technique des cylindres d'agar

Utilisation de surnageant ou filtrat de culture



Technique des puits

Technique des disques



### 3.1. Utilisation de la souche pure directement

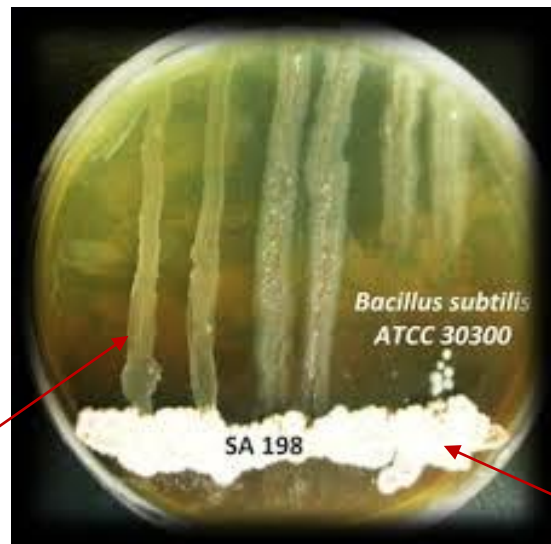
#### Technique des stries croisées

- Ce teste consiste à ensemencer la souche teste en un seul trait sur un milieu gélosé adéquat.
- Après incubation à la température et temps de l'isolat test, les germes cibles (microorganismes pathogènes) sont ensuite ensemencés perpendiculairement à la souche teste
- Les boites sont incubées à 37°C /24h pour les bactéries et 28°C/48h pour les moisissures
- Les zones d'inhibition sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse

#### Technique des cylindres d'agar

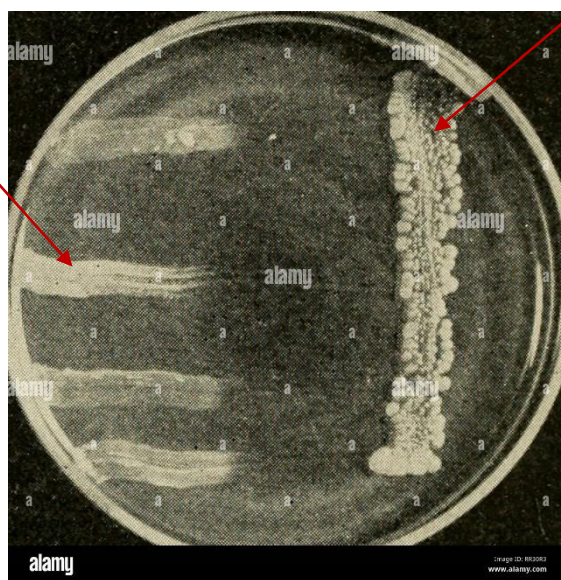
- La souche teste est ensemencées en stries sérées sur le milieu gélosé et incubée à température et temps idéaux
- Des cylindres d'agar de 6 mm de diamètre sont prélevés et déposés à la surface du milieu Mueller Hinton préalablement ensemencé avec des germes cibles à raison de  $10^{1-7}$  UFC/mL
- Les boites ensemencées sont maintenues à 4°C/2h avant d'être incubées à 37°C/24h pour les bactéries et 28°C/48h pour les moisissures
- Les zones d'inhibition sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse

## Chapitre 2 Microorganismes d'intérêt industriel

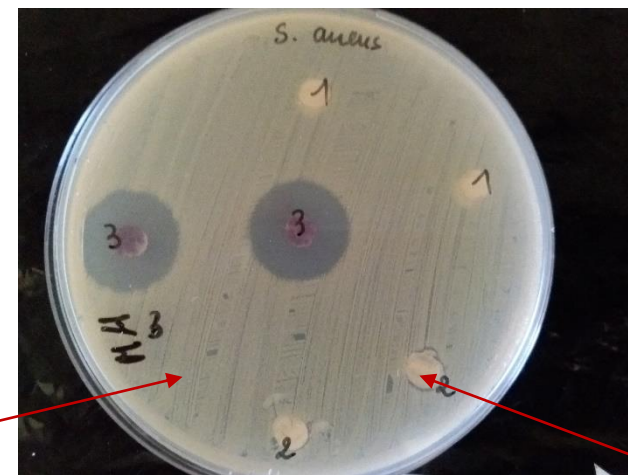


Germes  
cibles

Souche  
teste

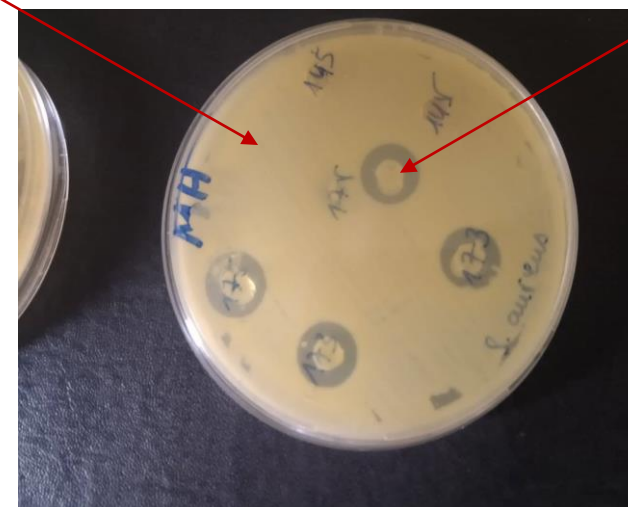


Technique des tries croisées



Germe  
cible

Souche  
teste en  
cylindres  
d'agars



Technique des cylindres d'agar

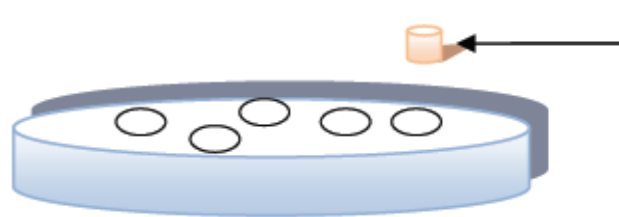
## Chapitre 2 Microorganismes d'intérêt industriel

(1)



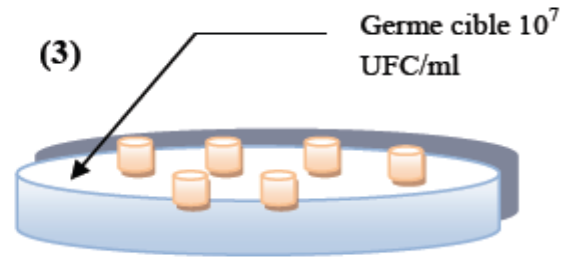
Milieu Williams modifié

Culture de la souche d'actinomycète sur milieu Williams et incubation à 28°C/10j



Cylindre de gélose

(3)



Germe cible 10<sup>7</sup>  
UFC/ml

Milieu Muller Hinton

Découpage des cylindres de gélose de 6mm de diamètre et dépôt sur milieu Muller Hinton préalablement ensemencé par étalement en surface le germe cible.

(4)



Mesure des diamètres des zones d'inhibition en (mm) après 24 et 48h d'incubation

Mise en évidence de l'activité antagoniste des souches d'actinobactéries par la méthode des cylindres d'agar

### 3.2. Utilisation de surnagent ou filtrat de culture

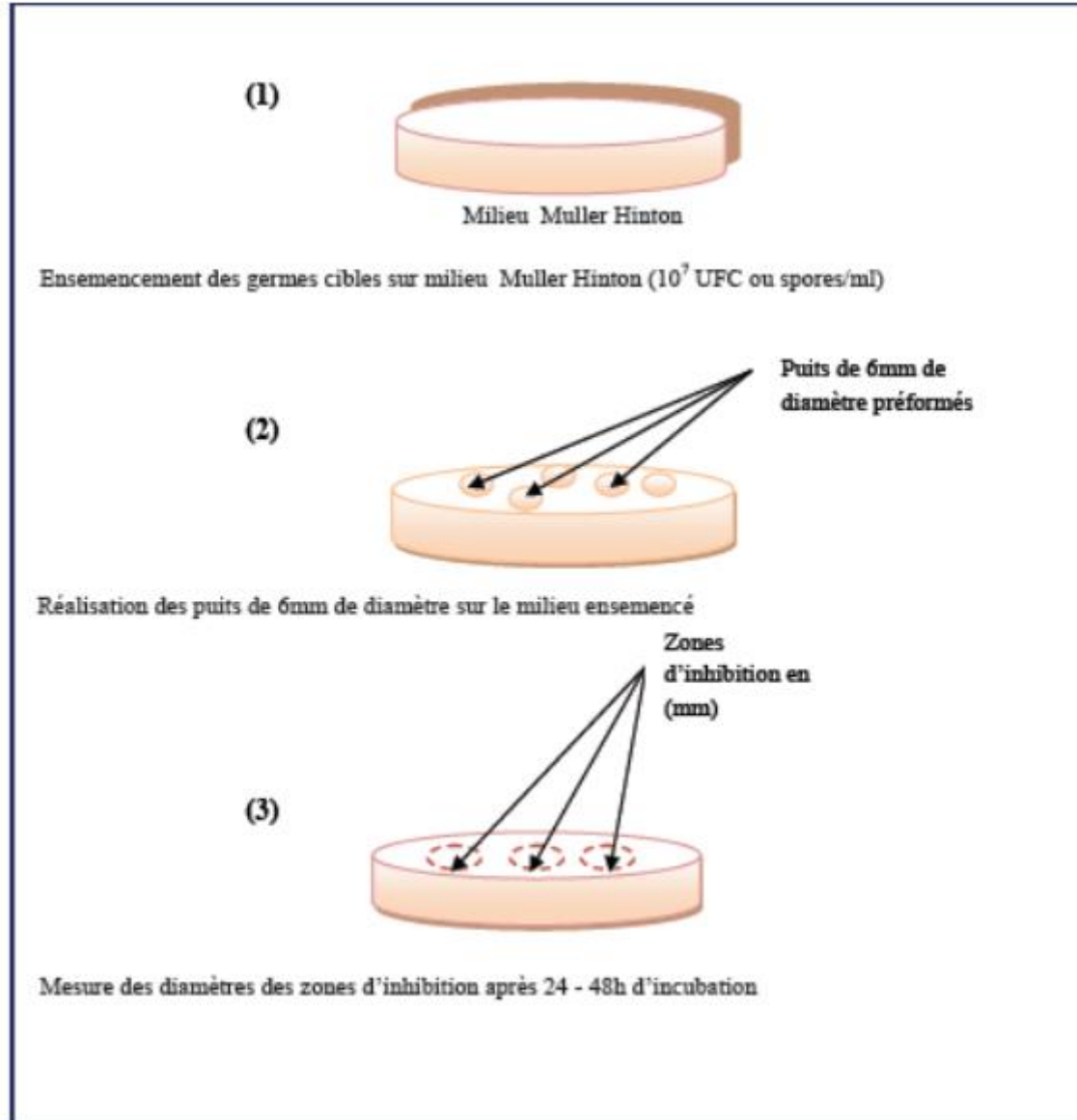
#### Technique des puits

- C'est une méthode de diffusion sur boîte de Petri.
- Le milieu Mueller Hinton est préalablementensemé avec le germe cible à raison de  $10^{7-7}$  UFC/mL
- La gelose est creusée de manière à former des puits de 6 mm de diamètre
- Les puits sont remplis avec 50-100  $\mu$ L de surnagent ou filtrat de culture
- Les boîtes ensemencées sont maintenues à 4°C/2h puis incubées à 37°C/24h pour les bactéries et 28°C/48h pour les moisissures
- Les zones d'inhibition sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse

#### Technique des disques

- Des disques de papier Whatman N°1 stériles sont chargés avec le surnagent ou le filtrat de culture (20-50  $\mu$ L) puis séchés à l'aide d'un séchoir
- Déposer ensuite les disques chargés à la surface du milieu Mueller Hinton préalablement ensemencé avec le germe cible à raison de  $10^{7-7}$  UFC/mL
- Les boîtes ensemencées sont maintenues à 4°C/2h puis incubées à 37°C/24h pour les bactéries et 28°C/48h pour les moisissures
- Les zones d'inhibition sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse

## Chapitre 2 Microorganismes d'intérêt industriel



Mise en évidence de l'activité antimicrobienne par la méthode des puits



### Exemples de microorganismes utiles dans l'industrie

#### Les Archaea

- Elles sont présentes dans les sources hydrothermales océaniques, les sources chaudes volcaniques ou encore les lacs salés, sol, l'eau de mer, des marécages, la flore intestinale
- Les archées interviennent de façon non négligeable dans les cycles du carbone et de l'azote.

Les Archaea se composent de trois groupes phénotypiques principaux

1

#### Les Archaea productrices de méthane (Methanoarchaea)

Anaérobies strictes, vivent dans les environnements les plus anaérobies sur la Terre, incluant les sols inondés, les rizières, les sédiments lacustres, les sédiments marins et le tube digestif des animaux. Elles sont psychrophiles, mésophiles et thermophiles. Elles interviennent dans le cycle du carbone

- Parmi les plus utilisées : *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanobrevibacter*, *Methanothermus* et *Methanococcus*.
- Les archaebactéries peuvent produire le méthane par les réactions suivantes :
- $\text{CO}_2 + 2\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + \text{O}_2$ . Exemple : *Methanobacterium*
- $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$ . Exemple : *Methanosarcina*
- Les bactéries méthanogènes transforment les boues (traitement des eaux usées) en méthane qui est libéré dans l'air sous forme de gaz

2

### Les Archaea halophiles extrêmes (Haloarchaea)

Ne se développent qu'à des concentrations de NaCl supérieures à 1,8 M. elles sont aérobies facultatives ou obligatoires. La plupart utilisent les acides aminés, les hydrates de carbonés ou les acides organiques comme source d'énergie.

3

### Les Archaea thermophiles extrêmes

Se développent à des températures supérieures à 80°C, elles sont retrouvées dans des environnements dans lesquels l'énergie géothermique est disponible comme les sources chaudes, les solfatares...

### Applications industrielles des archaea

- Les enzymes des Archaea thermophiles extrêmes peuvent avoir des applications commerciales importantes à cause de leur température optimale élevée et leur thermostabilité
- L'activité à haute température est une caractéristique capitale parce que plusieurs procédés industriels se déroulent à des températures entre 50 et 100°C.
- Les enzymes qui ont une température optimale élevée sont moins coûteuses que les autres (elles donnent la même activité avec un nombre moins d'enzymes).
- La résistance à la chaleur est corrélée à une résistance plus élevée aux températures moyennes et aux produits chimiques dénaturants.

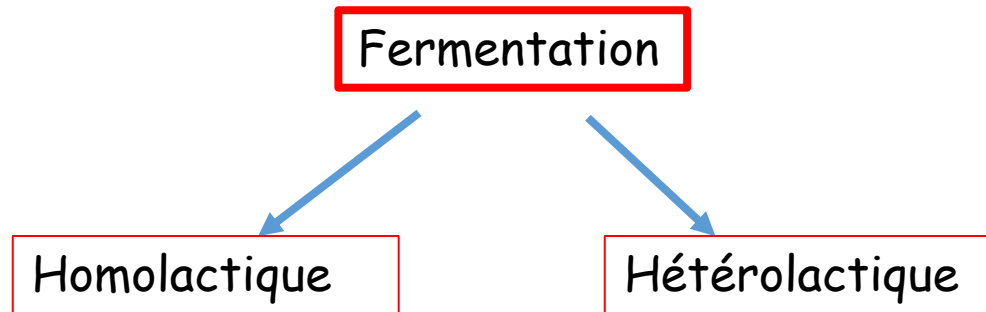
### 2. Les Bactéries fermentaires

#### 2.1. Fermentation lactique : Bactéries lactiques

- Elles produisent l'**acide lactique** qui permet d'acidifier le substrat et par conséquence d'inhiber la prolifération de germes pathogènes ou d'agents indésirables provoquant des modifications organoleptiques.
- présentes dans de nombreux milieux naturels, allant du sol, des plantes en décomposition, aux animaux. Le tractus gastro-intestinal des mammifères est colonisé par des bactéries lactiques comme *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc*.
- Les bactéries lactiques sont aéroanaérobies ou microaérophiles, exigeantes d'un point de vue nutritionnel car elles sont incapables de synthétiser un certain nombre d'acides aminés.

## Chapitre 2 Microorganismes d'intérêt industriel

Il existe deux types de fermentation : homolactique et hétérolactique, qui produisent de l'acide 2- hydroxypropionique (acide lactique), de l'éthanol et du dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ).



Dans ce processus, le glucose est fermenté en **acide lactique** comme principal produit final, avec une production minimale d'autres produits secondaires.

*Lactobacillus* et *Streptococcus* sont les principaux acteurs de la fermentation homolactique.

Contrairement à la fermentation homolactique, la fermentation hétérolactique ne produit pas uniquement de l'acide lactique comme principal produit final.

*Leuconostoc* et *Lactobacillus* réalisent la fermentation hétérolactique.

**Acide lactique**

**Ethanol**

**$\text{CO}_2$**

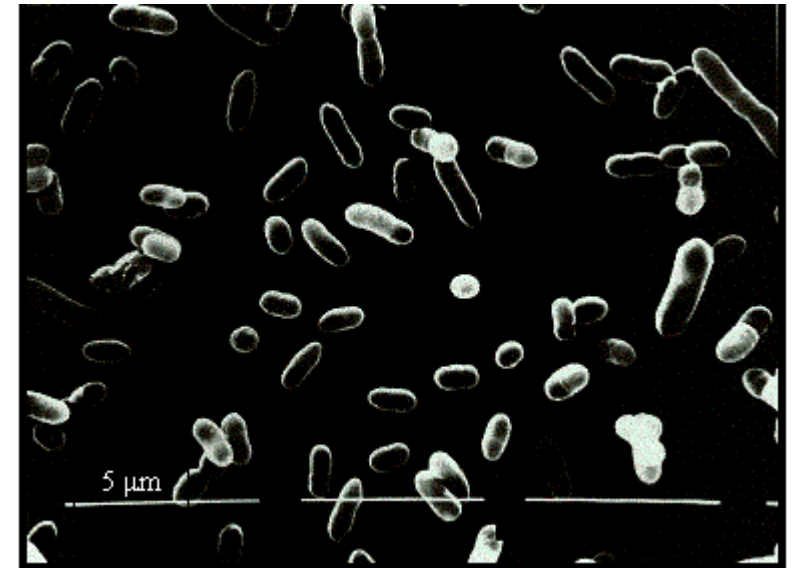
**Acetate (acide acétique)**



### 2.2. La fermentation alcoolique : Glucose $\rightarrow$ 2 Ethanol.

- La principale bactérie utilisée est *Zymomonas mobilis* qui est une espèce anaérobie facultative à Gram négatif en forme de bâtonnet.

- La production d'éthanol par cette bactérie est très rentable quand elle est cultivée sur la mélasse.
- Elle décompose les glucides en pyruvate via la voie d'Entner-Doudoroff.
- Le pyruvate est ensuite fermenté en éthanol et en dioxyde de carbone comme chez les levures.
- *Z. mobilis* est considérée comme étant plus efficace que la levure *Saccharomyces cerevisiae* (levure de bière) qui est pourtant une grande productrice d'éthanol.



### 2.3. La fermentation acétique

Ethanol → Ethanal (acétaldéhyde) + H<sub>2</sub>

Ethanal → Acide acétique + H<sub>2</sub>

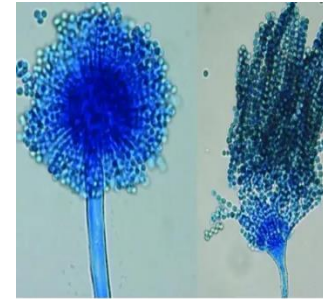
- Les bactéries utilisées pour cette fermentation sont les *Acetobacteraceae* qui appartiennent à l'ordre des *Rhodospirillales*.
- Les bactéries acétiques regroupent des alphaprotéobactéries bacilliformes à flagelle et chimioorganotrophes. Elles sont de Gram négatif.
- *Acetobacter aceti* est la principale espèce utilisée.
- Mais d'autres aussi le sont, comme : *Gluconoacetobacter xylinum*, *Gluconoacetobacter hansenii*, *Gluconoacetobacter sacchari*, *Acidomonas methanolica* et *Gluconoacetobacter methanolicus*.



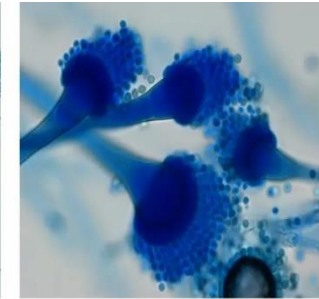
*Acetobacter aceti*

### 3. Champignons

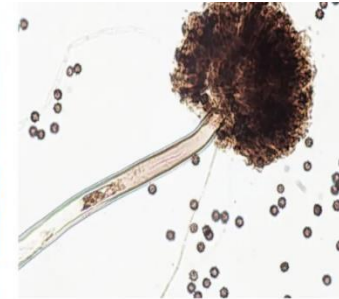
- Les principales espèces utilisées dans la production des enzymes et des acides appartiennent aux Deutéromycètes, notamment *Aspergillus* et *Penicillium*.
- Ces deux genres ont une très grande diversité métabolique qui permet leur utilisation pour diverses productions, notamment les acides organiques, les enzymes et les antibiotiques.
- Les genres *Rhizopus* et *Mucor* qui appartiennent aux Zygomycètes sont aussi largement utilisées pour leur facilité de culture et leur peu d'exigences aux conditions physicochimiques.
- Parmi les ascomycètes, nous pouvons citer les levures *Saccharomyces*, *Hansenula* et *Kluyveromyces* qui sont utilisées en industries alimentaires pour la production de pain, des boissons alcoolisées, des fromages enrichis en protéines, etc.



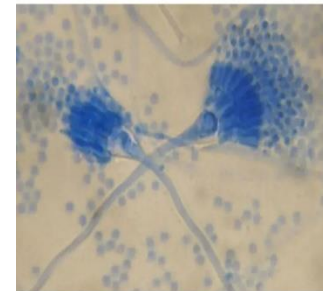
*Aspergillus flavus*



*Aspergillus fumigatus*



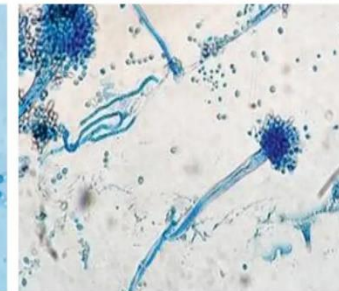
*Aspergillus niger*



*Aspergillus terreus*



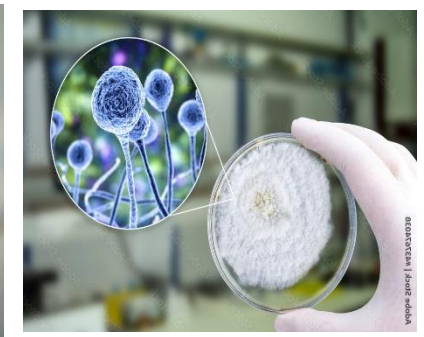
*Aspergillus glaucus*



*Aspergillus nidulans*



*Penicillium  
roqueforti*



*Mucor* sp.

### Aspergillus niger

- C'est un champignon filamenteux ascomycète de l'ordre des Eurotiales,
- il apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes.
- *Aspergillus niger* est une espèce importante sur le plan économique car elle est utilisée en fermentation industrielle pour produire de:
- **L'acide citrique:** utilise dans l'industrie agroalimentaire comme acidifiant et antioxydant pour renforcer les saveurs et conserver les jus de fruits.
- **L'acide gluconique:** est un constituant naturel des jus de fruit qui est largement utilisé dans les médicaments, la nourriture, les détergents, le textile, le cuir...
- **Les enzymes:** comme la glucose oxydase, la catalase et les hydrolases (cellulase, xylanase, pectinase) qui sont les principales enzymes utilisées dans la production des bières et des boissons sucrées.

### Penicillium

- Les *Penicillium* sont des champignons filamenteux.
- Ce sont des champignons très communs dans l'environnement pouvant être responsables de nombreuses dégradations.
- Diverses espèces sont cultivées au niveau industriel pour la fabrication de:
- **fromages:** *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camembertii*.
- **Production de métabolites :** Les antibiotiques de type pénicillines *Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*
- **L'acide gluconique:** *Penicillium purpurogenum*.



### 4. Les levures

- La levure est un champignon unicellulaire capable de provoquer la fermentation des matières organiques animales ou végétales.
- Pour la plupart, elles appartiennent à la division *Ascomycota*, de la règne *Fungi*.
- Les levures sont utilisées pour la fabrication du vin, de la bière, des alcools industriels, des pâtes levées et d'antibiotiques.
- Exemple: La levure de boulanger est une levure obtenue à partir de différentes souches de *Saccharomyces cerevisiae* seules ou en mélange, utilisée pour obtenir une fermentation du pain lors du processus de panification.



### Amélioration des souches sélectionnées

- Augmenter la capacité de production (du produit) des microorganismes.
- Amélioration de la spécificité de substrat et de la vitesse de production.
- Amélioration des nouvelles voies de production.
- Amélioration de la résistance aux conditions défavorables (température, pH, toxine, bactériophage).

### Amélioration génétique des souches

1

Manipulation du matériel  
génétique n'impliquant pas de  
l'ADN étranger par  
mutagenèse

#### Agents physiques

- Radiations ionisantes: rayons X, rayons gamma,
- Rayon UV (200 et 300 nm): Formation de liaison covalente entre pyrimidines (C et T).

#### Agents chimiques

- Agents actifs sur l'ADN en phase de non répliation: Acide nitrique (nitrate de sodium)
- Analogues de l'ADN

### 2

### Manipulation du matériel génétique impliquant de l'ADN étranger

- **La transduction:** implique le transfert d'un fragment d'ADN chromosomique ou d'un plasmide d'une **bactérie** à une autre par un bactériophage.
- La conjugaison
- La transformation
- La recombinaison
- Fusion des protoplastes
- **Ingénierie métabolique:** création ou modification de voies métaboliques par manipulation des gènes de la voie, dans le but d'améliorer la production d'un métabolite, d'éliminer ou de réduire un métabolite indésirable, ou de changer la production vers un nouveau métabolite
- **Ingénierie génétique (technologie de l'ADN recombinant, clonage moléculaire, clonage de gènes)**

### Conservation des souches

#### 1. Méthodes de Conservation

le choix est en fonction du microorganisme et le but recherché

##### Principe

Diminuer la vitesse du métabolisme de l'organisme.

Les méthodes de préservation (conservation) impliquent une ou plusieurs des techniques suivantes:

- Réduction de la température de croissance.
- Dessiccation ou déshydratation du milieu de culture.
- Limitation des nutriments disponibles au microorganisme.

### 1. Méthodes basées sur la réduction de la température de croissance

#### 1. Préservation sur gélose et réfrigération ordinaire (4-10°C)

- Les microorganismes aérobies: gélose inclinée.
- Les microorganismes anaérobique: gélose profonde + paraffine ou de huile.
- Stockage de 3 a 12 mois

#### Avantages

Méthode peu couteuse car ne nécessitent pas d'équipement spéciaux

#### Inconvénients

- La température de réfrigération ne limite pas complètement la croissance des microorganismes et donc nécessité un repiquage répétitif de la souche.
- Risque de contamination et de mutation consécutif au repiquage répétitif.
- Occuper un volume important.

### 2. Préservation à des températures de congélation (de -20°C jusqu'à -80°C)

Bouillon de culture + 10 à 20% cryoprotecteur (glycérol, raffinose, lactose, ou tréhalose).

#### Avantages

- La méthode est simple et nécessite peu d'équipement.
- Stockage jusqu'à 3 ans.
- Utilisable pour différents types d'organisme.

## 2. Méthodes basées sur la déshydratation

### Principe

Élimination de l'eau nécessaire au métabolisme.

1. Séchage dans un sol stérile : microorganismes sporulants
2. Lyophilisation: consiste à ôter l'eau libre de l'échantillon à l'aide de la surgélation puis une évaporation sous vide de la glace sans la faire fondre (lyophilisateur).

La lyophilisation, appelée autrefois cryodessiccation, est une opération de **déshydratation à basse température** qui consiste à éliminer par **sublimation**, la majeure partie de l'eau contenue dans un produit. Elle autorise une conservation à long terme grâce à l'abaissement de l'activité de l'eau du produit.



### Avantages

- Utilisable pour la conservation de quantités importantes des microorganismes dans l'industrie.
- Un équipement relativement peu coûteux.
- La longévité des organismes (jusqu'à 10 ans).