

Chapitre I : Introduction à la microbiologie industrielle

1. Introduction

La microbiologie industrielle est un domaine qui exploite les microorganismes à des fins commerciales pour réaliser des processus à grande échelle tels que la biosynthèse, la biotransformation ou la dégradation. Son origine remonte à environ 7000 ans, où les microorganismes ont été utilisés de manière empirique pour la conservation des aliments, la production de pain, de vinaigre, de boissons alcoolisées et de fromage.

Au fil du temps, avec les avancées dans la découverte des microorganismes et les connaissances accumulées, la microbiologie industrielle s'est développée en tant que branche de la microbiologie appliquée. Elle utilise les microorganismes d'intérêt pour produire des biomasses riches en protéines ou des molécules utiles à l'homme, que ce soit par le métabolisme primaire (acides aminés, acides organiques, biogaz) ou le métabolisme secondaire (antibiotiques, vitamines, polysaccharides). Les microorganismes utilisés en microbiologie industrielle comprennent des bactéries, des archées, des levures, des moisissures et des microalgues. Ces organismes peuvent être utilisés dans leur état naturel, être des mutants sélectionnés en laboratoire ou même être des microorganismes génétiquement modifiés (MOGM).

Ainsi, la microbiologie industrielle permet de tirer parti des capacités des microorganismes pour produire des substances et des produits d'intérêt commercial. Elle joue un rôle important dans de nombreux secteurs, tels que l'industrie alimentaire, pharmaceutique, chimique et énergétique, en fournissant des solutions durables et économiquement viables. Les avancées dans ce domaine continuent d'ouvrir de nouvelles possibilités pour l'utilisation des microorganismes dans des applications industrielles innovantes.

2. Intérêt de l'utilisation des microorganismes en industrie

L'utilisation des micro-organismes en industrie offre une multitude de produits et de services, présentant certains avantages significatifs par rapport aux procédés chimiques traditionnels. Les micro-organismes se sont révélés particulièrement utiles pour les raisons suivantes :

- a) Coût inférieur : Les procédés utilisant des micro-organismes ont souvent des coûts de production inférieurs par rapport aux procédés chimiques. Les micro-organismes utilisent des matières premières moins coûteuses et peuvent être cultivés dans des conditions relativement simples, ce qui réduit les dépenses associées.

- b) Synthèse et biotransformation spécifiques : Certains composés ne peuvent être synthétisés ou transformés efficacement que par des micro-organismes. Par exemple, la production de stéroïdes ou d'autres molécules complexes nécessite souvent l'utilisation de micro-organismes spécialisés capables de réaliser des réactions chimiques spécifiques.
- c) Production à grande échelle : Les micro-organismes peuvent être cultivés en grandes quantités dans des bioréacteurs, permettant ainsi une production à grande échelle. Cette capacité à produire des quantités importantes de produits est essentielle pour répondre aux demandes industrielles.
- d) Sécurité sanitaire : L'utilisation de micro-organismes dans certains processus de production peut offrir une sécurité sanitaire accrue. Par exemple, dans la production de certaines molécules, les micro-organismes éliminent le risque de transmission de maladies d'origine animale, offrant ainsi des produits plus sûrs sur le plan sanitaire.

L'utilisation des micro-organismes en industrie présente des avantages économiques, techniques et en matière de sécurité sanitaire. Leur capacité à effectuer des synthèses spécifiques, à produire en grandes quantités et à offrir une alternative plus abordable aux procédés chimiques traditionnels en fait des outils précieux dans de nombreux secteurs industriels.

3. Les domaines d'activité de la microbiologie industrielle

➤ **Domaine agroalimentaire** : plusieurs produits alimentaires sont issus de la fermentation industrielle, c'est le cas par exemple de la fabrication du yaourt réalisé par l'action de deux bactéries, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. La bactérie lactique, *Lactococcus lactis*, est utilisée pour la fabrication des différents types de fromages à pâtes fraîches, en raison de son aptitude à acidifier le milieu suite à la fermentation de lactose en acide lactique, ce qui facilite ainsi la formation du caillé. Plusieurs acides organiques sont produits industriellement par voie microbienne, comme par exemple, l'acide acétique et l'acide citrique, produits par les espèces du genre *Acetobacter* et le champignon *Aspergillus niger*, respectivement.

➤ **Domaine pharmaceutique** : parmi les sources majeures de médicaments qui existent sur le marché c'est les microorganismes, en particulier les bactéries membres dans le phylum des *Actinobacteria*, qui sont la source de 80% des antibiotiques qui existe sur le marché.

➤ **Domaine de bioremédiation et dépollution de l'environnement** : Grâce à son aptitude de biotransformation des polluants toxiques, les microorganismes peuvent être utilisés dans la décontamination de milieux pollués, ce procédé est appelé bioremédiation.

➤ **Domaine d'énergie renouvelable** : les microorganismes jouent un rôle primordial dans le domaine d'énergie renouvelable, en effet, par l'intervention de plusieurs microorganismes, les déchets organiques peuvent être convertis en biogaz (méthane) ou bioéthanol, qui sont ensuite utilisés comme carburants pour remplacer l'énergie fossile.

4. Fonctions des microorganismes

4.1. Fonction technologique

- Fermentation (Transformation de la matière première)
- Qualité organoleptique (Changements du goût, de l'odeur, apparence physique et la consistance / texture (les propriétés rhéologiques du produit))

4.2. Rôle dans la conservation/amélioration de la qualité hygiénique

- Production de substances antimicrobiennes
 - Acides organiques (Acides lactique, acétique, propionique)
 - Bactériocines / antibiotiques
 - Alcools
 - Diacétyl
- ✓ Inhibition de micro-organismes pathogènes et/ou d'altération et diminution du risque d'intoxications alimentaires d'origine microbienne : *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium*, *Bacillus cereus*, etc.

4.3. Fonction nutritionnelle

- ✓ Production de vitamines (Vitamines du groupe B, Ac. folique, etc.)
- ✓ Amélioration de la digestibilité de nutriments complexes
- ✓ Disponibilité d'acides aminés essentiels
- ✓ Meilleure disponibilité d'oligo-éléments (exp.: Phytates et fer dans le pain)

4.4. Intérêt sanitaire

- ✓ Probiotiques : Action bénéfique sur la santé humaine ou animale
 - Diminution du taux de cholestérol dans les aliments
 - Diminution de l'acuité de l'intolérance au lactose
 - Colonisation de l'intestin / micro-organismes utiles

- ✓ Lutte contre les pathogènes dans l'intestin
- ✓ Rôle anti-cancer
- ✓ Dégradation de toxines (exp. Bactéries lactiques et mycotoxines)

Le Tableau 1 : quelques exemples de l'application des microorganismes en industrie

Microorganismes	Le produit de la fermentation	L'application
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ethanol	Chimie fine
<i>Pseudomonas</i>	Acide 2 ceto-gluconique	Un intermédiaire dans la production de l'acide ascorbique (vitamine C) ; précurseur de la synthèse d'acide isoascorbique.
<i>Aspergillus niger</i>	Pectinase, protease	Clarification des jus de fruits
<i>Bacillus subtilis</i>	Amylase	Préparation de l'amidon modifié ; Utiliser pendant l'encollage de papier.
<i>Bacillus subtilis</i>	Protease	Hydrolyse des protéines
<i>Micrococcus glutamicus</i>	Lysine	Additif alimentaire
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Dextran	Stabilisant alimentaire
<i>Gluconobacter suboxydans</i>	Sorbose	Production acide ascorbique
<i>Streptomyces olivaceus</i>	Cobalamine (Vitamine B12)	Complément alimentaire
Recombinant d' <i>E. coli</i>	Insuline	Médecine humaine
<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Yaourt	Starter dans l'industrie laitière
<i>Candida utilis</i> <i>Fusarium graminearum</i>	Les protéines d'origine unicellulaires (P.O.U)	Alimentation humaine et animale
<i>Cephalosporium acremonium</i> <i>Saccharopolyspora erythrea</i>	<i>Cephalosporin</i> <i>Erythromycin</i>	Antibiotiques pour le traitement des infections

Chapitre 2 : Les Microorganismes d'intérêt industriel

1. Introduction

Les micro-organismes jouent un rôle essentiel dans l'industrie en raison de leur facilité de culture, de leur croissance rapide, de leur capacité à utiliser des substrats peu coûteux (parfois des déchets de l'industrie agro-alimentaire) et de leur adaptabilité aux manipulations génétiques. Ces caractéristiques en font des outils précieux pour de nombreuses applications industrielles. Parmi les micro-organismes utilisés en industrie, on retrouve principalement les champignons tels que les levures et les moisissures, ainsi que certains procaryotes, tel que les bactéries, en particulier le genre *Streptomyces*, et les archéobactéries. Ces micro-organismes présentent des propriétés spécifiques qui les rendent adaptés à des fonctions industrielles particulières.

2. Exemples des microorganismes utiles dans l'industrie

2.1. Les Archaea

Les archées sont des microorganismes unicellulaires procaryotes, dépourvus de noyau et d'organites. Initialement considérées comme des bactéries extrémophiles, elles sont présentes dans des environnements tels que les sources hydrothermales océaniques, les sources chaudes volcaniques, les lacs salés, les sols et les marécages, ainsi que dans la flore intestinale. Les archées jouent un rôle important dans le cycle du carbone et le cycle de l'azote.

Les Archaea se composent de trois groupes phénotypiques principaux :

- **Les Archaea productrices de méthane (*Methanoarchaea*)** : sont 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 de carbone.
- **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 carbones ou les acides organiques comme source d'énergie.
- **Les Archaea thermophiles extrêmes** : croissent à des températures supérieures à 80°C, disponible comme les sources chaudes, les solfatares, les sédiments marins chauffés par géothermie.

➤ Applications industrielles

1. Environnement et écologie :

- Les archées méthanogènes sont utilisées dans les installations de biogaz pour produire du

méthane à partir de déchets organiques.

- Certains types d'archées sont utilisés pour le traitement des eaux usées, contribuant à la dégradation des composés organiques et à la purification de l'eau.

2. Industrie alimentaire :

- Les archées halophiles (adaptées aux environnements salins) sont utilisées dans la production de sel.

- Certaines archées sont utilisées dans la fermentation de produits alimentaires tels que la choucroute et le kimchi.

3. Biotechnologie :

- Les archées extrêmophiles (adaptées aux environnements extrêmes) sont étudiées pour leurs capacités uniques et leurs enzymes résistantes à des conditions extrêmes. Elles peuvent être utilisées dans des processus industriels nécessitant des conditions sévères, tels que la production de produits chimiques ou le traitement de déchets.

4. Recherche scientifique :

- Les archées servent de modèles d'étude pour comprendre l'évolution et l'adaptation à des environnements extrêmes.

- Leur étude peut aider à mieux comprendre les mécanismes de survie et les adaptations biologiques dans des conditions extrêmes, ce qui peut avoir des implications dans la recherche sur l'origine de la vie.

5. Médecine et pharmacologie :

- Les archées fournissent des sources potentielles de nouveaux antibiotiques et de composés bioactifs.

- Certaines archées sont étudiées pour leur rôle dans la santé intestinale et la modulation du microbiome.

2.2. Les Bactéries

- ✓ Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires présents dans de nombreux environnements. Leur petite taille et leur capacité à se reproduire rapidement en font des candidats idéaux pour la production à grande échelle.

- ✓ Présentent différentes formes (les coques, les bacilles, les coccobacilles, les vibrios, les spirales...), ainsi différents modes de regroupement (en amas, en chapelet, en grappe...).

- ✓ L'appareil nucléaire des bactéries est constitué d'un chromosome unique (circulaire, refermé sur lui-même, ne contient pas des régions répétitives de grande taille) situé dans

le cytoplasme.

- ✓ Il peut y avoir du matériel génétique extra-chromosomique : plasmide (ADN bicaténaire circulaire, transmissible).
- ✓ Selon la source de carbone et d'énergie nous avons les bactéries : photoautotrophes, les photohétérotrophes, les chimioautotrophes, les chimiohétérotrophes.

➤ Applications des bactéries

Voici quelques exemples spécifiques d'applications des bactéries :

1. Production d'enzymes et protéines:

- *Bacillus subtilis* est utilisé pour produire des enzymes telles que l'amylase, la protéase et la lipase, qui sont utilisées dans diverses industries, y compris l'alimentation, la lessive et la production de biocarburants.
- *Escherichia coli* est utilisée comme hôte dans la production de protéines recombinantes.

2. Production de produits laitiers :

- Les bactéries lactiques telles que *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sont utilisées dans la production de yaourts, *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc* pour la fabrication de fromages et d'autres produits laitiers fermentés.

3. Production d'acide:

- Les bactéries lactiques, notamment *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei*, sont utilisées pour fermenter des sucres et produire de l'acide lactique, qui est utilisé dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.
- *Acetobacter* et *Gluconobacter* sont les principaux microorganismes responsables de la production de vinaigre.

4. Production de vitamines :

- Certaines bactéries, comme *Propionibacterium freudenreichii*, sont utilisées pour produire de la vitamine B12, qui est utilisée dans les compléments alimentaires et l'industrie pharmaceutique.

5. Dégradation des hydrocarbures :

- Des bactéries telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Alcanivorax borkumensis* sont utilisées pour dégrader les hydrocarbures présents dans les marées noires et les déversements pétroliers.

6. Dégradation des déchets :

- Des bactéries telles que *Bacillus spp.* et *Pseudomonas spp.* sont utilisées dans les installations de traitement des eaux usées pour décomposer les matières organiques et éliminer les polluants.

7. Production de bioplastiques :

- Des bactéries telles que *Cupriavidus necator* sont utilisées pour produire du polyhydroxyalcanoate (PHA), un bioplastique biodégradable utilisé dans les emballages et les produits jetables.

8. Production de médicaments :

- Des bactéries génétiquement modifiées, telles que *Escherichia coli*, sont utilisées pour produire des protéines thérapeutiques telles que l'insuline, les hormones de croissance et les anticorps, qui sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique.

2.3. Les champignons

2.3.1. Les moisissures

- Ce sont en général des organismes pluricellulaires, la plupart des moisissures sont hétérotrophes, certaines espèces possèdent un métabolisme mixte.
- Les moisissures sont à l'origine de la découverte de la pénicilline, le premier antibiotique réellement efficace. Il est produit naturellement par les moisissures du genre *Penicillium*.

a-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 etc.

- **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.

b. *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:
Le fromages (*Penicillium roqueforti*, *Penicillium camembertii*).
La production de métabolites : Les antibiotiques de type pénicillines (*Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*) ; L'acide gluconique (par *Penicillium purpurogenum*).

2.3.2. Les levures

- La levure est un champignon unicellulaire, se reproduisant de manière asexuée et 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, de biocarburants et d'antibiotiques.

❖ Il existe différents types de levures, parmi lesquels on peut citer :

1. **Levure de bière ou levure de boulanger (genre *Saccharomyces*) :** C'est le type de levure le plus courant et le plus connu. Elle est largement utilisée dans la fabrication de bière, de pain et de vin comme *Saccharomyces cerevisiae*
2. ***Candida* :** Certaines espèces de *Candida* sont des types de levures qui peuvent être pathogènes. Elles peuvent causer des infections chez l'homme, notamment des infections fongiques
3. ***Pichia*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Metchnikowia* :** Ces sont d'autres genres de levures qui présentent une diversité d'espèces et d'applications dans différents domaines

Les levures ont des applications industrielles variées et essentielles dans différents secteurs. Voici quelques exemples d'applications industrielles des levures :

- ✓ **Industrie alimentaire :** Les levures sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire

pour la production de divers produits tels que le pain, les boissons fermentées, l'éthanol, les produits laitiers et la bière. Elles jouent un rôle crucial dans la fermentation de ces aliments, contribuant à leur saveur et leur texture

- ✓ **Santé humaine et animale** : Les levures sont utilisées dans l'industrie pharmaceutique pour la production d'insuline et d'autres médicaments (antibiotiques). Elles sont également utilisées comme probiotiques pour améliorer la santé digestive des animaux monogastriques et ruminants
- ✓ **Cosmétique** : Les levures sont présentes dans l'industrie cosmétique pour la fabrication de produits pour les cheveux, les ongles et la peau. Leurs propriétés bénéfiques sont exploitées dans divers produits de soins
- ✓ **Bioéthanol** : Les levures peuvent fermenter les sucres présents dans la biomasse végétale pour produire du bioéthanol, un biocarburant utilisé comme alternative aux combustibles fossiles. Des souches spéciales de levures sont sélectionnées et optimisées pour maximiser la production de bioéthanol à partir de matières premières telles que la canne à sucre, le maïs ou la cellulose.
- ✓ **Production d'enzymes** : Certaines levures produisent des enzymes d'intérêt industriel, comme les amylases, les protéases et les lipases. Ces enzymes sont utilisées dans divers processus industriels tels que la production de détergents, la transformation alimentaire, la production de biocarburants et l'industrie papetière.
- ✓ **Dépollution** : Certaines levures sont capables de dégrader et de détoxifier certains produits chimiques toxiques et polluants présents dans l'environnement. Elles peuvent être utilisées dans des processus de bioremédiation pour dégrader les hydrocarbures, les métaux lourds et d'autres substances toxiques présentes dans les sols, l'eau et l'air.

2.4. Les Algues

- Les algues sont des organismes aquatiques, souvent unicellulaires, qui peuvent être classés en deux catégories principales : les macroalgues et les microalgues. Les macroalgues sont des algues de grande taille, généralement visibles à l'œil nu, tandis que les microalgues sont des algues unicellulaires, souvent microscopiques constituant une composante essentielle du phytoplancton. Elles possèdent des chloroplastes, ce qui leur permet de convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique par le biais de la photosynthèse. Ces microorganismes jouent un rôle crucial dans les écosystèmes aquatiques et présentent un intérêt croissant dans divers domaines.

Les types de microalgues sont variés et se regroupent en deux grandes sous-familles :

- 1) **Microalgues procaryotes** : Ce sont des organismes unicellulaires sans noyau ni organites. Elles comprennent les cyanobactéries, telles que la spiruline et la klamath. Ces microalgues sont souvent utilisées pour leur richesse nutritionnelle et leurs bienfaits pour la santé.
- 2) **Microalgues eucaryotes** : Ces organismes possèdent un noyau et des organites divers. Ils regroupent différentes espèces comme les chlorophycées, dont la chlorelle ou chlorella

Les microalgues eucaryotes peuvent être classées selon leur couleur :

Microalgues Vertes : Contenant de la chlorophylle, elles ont une couleur verte caractéristique et sont utilisées dans l'alimentation et la recherche scientifique.

Microalgues Rouges : Leur couleur provient des pigments phycobiliprotéines, et elles sont prisées dans l'industrie alimentaire et cosmétique.

Microalgues Bleu-Vert : Aussi appelées cyanobactéries, elles ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique.

➤ Applications

Les microalgues ont diverses applications, notamment :

1. **Dans l'alimentation** : Les microalgues sont une source prometteuse de protéines pour nourrir la planète, nécessitant peu de ressources pour leur culture
2. **En cosmétique** : Elles sont utilisées dans la fabrication de shampoings, lotions pour le corps, crèmes anti-UV, fonds de teint, savons, et gels douche
3. **Dans la dépollution atmosphérique** : Les microalgues peuvent être utilisées pour recycler le dioxyde de carbone rejeté par l'industrie, contribuant ainsi à réduire les émissions de CO₂ et à lutter contre le réchauffement climatique; elles peuvent être exploiter pour la production de biocarburant.
4. **Dans la construction** : Des projets utilisent les microalgues pour concevoir des Biofaçades, des parois composées de structures à double vitrage contenant un milieu aqueux où les algues sont cultivées. Ces Biofaçades permettent de produire de l'électricité, de la chaleur et de recycler le CO₂
5. **En tant que bioindicateurs** : Certaines microalgues sont sensibles à certains polluants, ce qui les rend utiles comme bioindicateurs de la qualité environnementale.

6. **Dans le traitement des eaux usées** : Les microalgues cultivées dans les eaux usées peuvent avoir diverses applications, notamment dans la captation des métaux lourds et la diminution de l'accumulation de dioxyde de carbone dans l'atmosphère.

2.4. Les virus

- Un virus est un agent infectieux nécessitant un hôte (parasite obligatoire).
- Les virus sont classifiés selon la nature de l'acide nucléique de leur génome (ADN ou ARN), la structure de l'acide nucléique (monocaténaire ou bicaténaire), la forme de l'acide nucléique (linéaire, circulaire, segmenté ou non).
- Ce sont des outils utilisés par exemple pour faire acquérir à une cellule la capacité de produire une protéine d'intérêt ou pour étudier l'effet de l'introduction du nouveau gène dans le génome. Exemple : les baculovirus sont des virus d'insectes très étudiés, ils constituent des moyens pour limiter ou remplacer les insecticides chimiques.

Les virus ont également des applications industrielles spécifiques. Voici quelques exemples :

1. Contrôle des infections bactériennes : Les bactériophages, des virus qui infectent et détruisent spécifiquement les bactéries, sont utilisés dans le domaine de la santé et de l'industrie alimentaire pour le contrôle des infections bactériennes. Les bactériophages peuvent être utilisés pour lutter contre les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques, notamment dans les applications médicales, vétérinaires et agricoles.

2. Génie génétique : Certains virus, tels que les virus adéno-associés (AAV), sont utilisés comme vecteurs de transfert de gènes dans les applications de thérapie génique. Ces virus sont modifiés pour transporter des gènes thérapeutiques spécifiques dans des cellules cibles afin de traiter des maladies génétiques ou acquises.

3. Production de protéines recombinantes : Certains virus, comme le baculovirus, sont utilisés dans la production de protéines recombinantes à grande échelle. Les cellules d'insectes sont infectées par le baculovirus modifié pour produire des protéines d'intérêt, qui sont ensuite récoltées et purifiées pour une utilisation dans diverses applications, y compris les produits pharmaceutiques et les recherches scientifiques.

4. Biotechnologie végétale : Les virus végétaux, tels que le virus de la mosaïque du tabac, peuvent être utilisés pour la production de plantes transgéniques. Ces virus peuvent être modifiés pour transporter des gènes d'intérêt dans les plantes, leur permettant de développer des

caractéristiques souhaitées, comme la résistance aux maladies ou l'amélioration de la qualité des cultures.

5. Contrôle des ravageurs agricoles : Certains virus sont utilisés comme agents de lutte biologique contre les ravageurs agricoles. Par exemple, le virus de la granulose est utilisé pour contrôler les populations de chenilles dans les cultures, offrant une alternative écologique aux pesticides chimiques.

6. Nanotechnologie : Les virus sont exploités en nanotechnologie pour le dépôt de métaux spécifiques et la production de nanomatériaux. Leur utilisation dans ce domaine a montré des avantages significatifs.

3. La souche microbienne à usage industriel

3.1. Caractéristiques de la souche idéale

Un micro-organisme utilisé dans un processus industriel doit présenter d'autres caractéristiques que sa seule capacité à produire la substance recherchée avec un rendement élevé.

1. Tout d'abord, l'organisme doit être capable de croître et de former des produits dans une culture à grande échelle.
2. Il doit produire des spores (s'il s'agit de champignons ou de levures) ou une autre forme de cellule reproductrice afin de pouvoir être facilement inoculé dans les grands récipients utilisés pour cultiver l'organisme producteur à l'échelle industrielle.
3. Elle doit également se développer rapidement et produire le produit souhaité dans un laps de temps relativement court.
4. Il doit également pouvoir se développer dans un milieu de culture liquide disponible en grandes quantités et à bas prix. De nombreux procédés microbiologiques industriels utilisent des déchets de carbone provenant d'autres industries comme ingrédients principaux ou complémentaires pour les milieux de culture à grande échelle. Il s'agit notamment de la liqueur de trempage de maïs et du lactosérum.
5. Un micro-organisme industriel ne doit pas être pathogène, en particulier pour l'homme ou les animaux ou des plantes d'importance économique. En raison des densités cellulaires élevées dans les processus microbiens industriels et de la quasi-impossibilité d'éviter la contamination de l'environnement à l'extérieur du récipient de croissance, un agent pathogène poserait des problèmes potentiellement désastreux.
6. Enfin, un micro-organisme industriel doit pouvoir faire l'objet de manipulations génétiques,

car l'augmentation des rendements est souvent obtenue par des techniques de mutation et de sélection génétique classique. Un micro-organisme génétiquement stable et facilement modifiable constitue donc un avantage indéniable pour un processus industriel.

3.2. Obtention des souches

- Isolement et sélection des microorganismes industriels « Screening Technic »

La première étape du développement d'une « souche » productrice consiste à isoler les micro-organismes concernés de leur habitat naturel. Ils sont présents pratiquement partout, par exemple dans l'air, l'eau, le sol, les surfaces des plantes et des animaux, ainsi que dans les tissus végétaux et animaux. Mais les sources les plus courantes de micro-organismes industriels sont les sols, les boues des lacs et des rivières. Souvent, l'habitat écologique à partir duquel un micro-organisme souhaité a le plus de chances d'être isolé dépend des caractéristiques du produit que l'on souhaite obtenir et du développement du processus. Le prélèvement est ensuite ensemencé sur un milieu approprié afin d'isoler le germe recherché. L'étape suivante consiste à isoler et purifier les différents clones obtenus. La purification est réalisée par strie d'épuisement. Cette technique permet l'isolement de colonies, et l'obtention des cultures pures.

Après l'isolement, les microorganismes obtenus subissent ensuite une sélection selon leur aptitude biologique et technologique :

- Des critères biologiques spécifiques aux microorganismes et leur application. Par exemple, les ferments lactiques sont sélectionnés selon leur pouvoir acidifiant et aromatisant ainsi qu'à la production des bactériocines.
- Non pathogènes et ne produisent pas de métabolites indésirables comme les toxines.
- Facile à manipuler génétiquement.
- Croître sur des substrats bon marché (les déchets d'industrie agroalimentaire).
- Ne possèdent pas d'exigence spécifique vis-à-vis des facteurs de croissances.
- Stable génétiquement, surtout après leur conservation par congélation ou lyophilisation.
- Pourvoir de résister aux différents procédés technologiques.
- La résistance aux bactériophages

Lorsqu'une souche est retenue et répond aux critères de sélection, elle fait l'objet d'une identification moléculaire sur la base de séquençage d'ADN 16S.

- Les micro-organismes peuvent également être obtenus sous forme de cultures pures

auprès d'organisations qui conservent des collections de cultures « souchothèques », par exemple American Type Culture Collection (ATCC) Rockville, Maryland, États-Unis ; Commonwealth Mycological Institute (CMI), Kew, Surrey, Angleterre ; Fermentation Research Institute (FERM), Tokyo, Japon ; Institut de recherche sur les antibiotiques de l'U.R.S.S. (RIA), Moscou, U.R.S.S., etc.

3.3. Amélioration des souches

Après l'identification d'un organisme produisant un produit de valeur, il devient nécessaire d'augmenter le rendement de la fermentation pour minimiser les coûts de production. Alors les objectifs sont :

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).

3.3.1. Sélection naturelle

- Choisir l'individu le plus performant
- Le cultiver
- Sélectionner le plus performant de sa descendance (2^{ème} génération)
- Poursuivre sur plusieurs générations

3.3.2. Mutagenèse

- Manipulation du matériel génétique n'impliquant pas de l'ADN étranger (Mutation conventionnelle (mutagènes))
- Fréquence de mutation : 10^{-2} (10^{-6} à 10^{-8} pour mutation naturelle)
- Criblage des mutants: mise en évidence et récupération (Exemples: Mutant auxotrophe pour un facteur de croissance donné ou un mutant résistant à un agent antimicrobien chimique ou un mutant capable de fermenter un glucide).

- **Agents physiques:**

–Radiations ionisantes: rayons X, rayons gamma, particules alpha, neutrons accélérés.

–Rayon UV (200 et 300 nm): Formation de liaison covalente entre pyrimidines (C et T).

- **Agents chimiques :** trois types:

- **Agents actifs sur l'ADN en phase de non réplication:** Acide nitrique (nitrate de sodium).
- **Analogues de l'ADN:** des composés qui sont structurellement similaires à l'ADN, ils permettent des modifications de la structure de la chaîne, en remplaçant le squelette phosphate.
- **Agents causants le changement du cadre de lecture:** des molécules peuvent s'intercaler dans l'ADN, dans l'espace compris entre deux paires de bases, on peut citer l'éthidium et la proflavine.

3.3.3. Recombinaison génétique « naturelle »

- 3.3.3.1. Reproduction sexuée

Possible pour les Ascomycètes (ex. : levure)

Conditions restrictives: même espèce et signes sexuels opposés

- 3.3.3.2. Parasexualité (cas des *Fungi imperfecti*)

3.3.4. Fusion cellulaire induite (fusion de protoplastes)

- Obtenir des recombinaisons génétiques entre cellules qui ne peuvent pas fusionner « naturellement »

Principe :

- Élimination de la paroi par attaque enzymatique (milieu isotonique)
- Mélange des 2 populations cellulaires en présence d'ions Ca^{++} et de polyéthylène glycol
- Régénération de la paroi
- Criblage des recombinants (marqueurs génétiques)

3.3.5. Recombinaison génétique *in vitro* (génie génétique)

Ingénierie génétique (technologie de l'ADN recombinant, clonage moléculaire, clonage de gènes)

- Excision d'une portion spécifique de l'ADN du donneur.

- Insertion de cette portion dans un ADN répliatif (vecteur, exp: plasmide).

Transfert de l'ADN recombinant dans la cellule hôte.

- Isolement des cellules hôtes qui ont efficacement reçues l'ADN recombinant.

3.4. Conservation des souches

- Pour une durée de conservation souhaitée : maintenir la souche à conserver viable, disponible et à l'identique.
- En microbiologie, où on travaille avec des organismes unicellulaires, conserver viable à l'identique, c'est conserver viable dans des conditions qui gardent le génome à l'identique.
- La conservation doit évidemment exclure les contaminations.

- Selon les cas, les durées de conservation souhaitées varient de quelques jours à plusieurs années et le choix d'une technique de conservation sera fortement influencé par ce paramètre de durée.
- Il faudra vérifier qu'on a maintenu à l'identique un ensemble de caractères génétiques et/ou morphologiques et/ou physiologiques et/ou biochimiques qui caractérisent la souche pure à conserver et qui sont d'intérêt pour les utilisateurs de la souche (les caractères sont définis par l'utilisateur en fonction de la nature de son travail sur la souche à conserver).
- Les méthodes de préservation (conservation) impliquent un ou plusieurs des techniques suivantes :
 - Réduction de la température de croissance.
 - Dessiccation ou déshydratation du milieu de culture.
 - Limitation des nutriments disponibles au microorganisme.
- Exemples de domaines servant à la conservation : pour taxonomistes, en génie biologique et dans le domaine médical.

3.4.1. Méthodes de Conservation

Le choix est en fonction de microorganisme et le but recherché :

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

1.1. Préservation sur gélose de conservation avec réfrigération ordinaire (4-10°C) par repiquages successifs

Pour les microorganismes aérobies : gélose inclinée.

Pour les microorganismes anaérobiques : gélose profonde + paraffine ou d'huile. Stockage de 3 à 12 mois

- C'est une méthode peu coûteuse car ne nécessitent pas d'équipement spéciaux mais la température de réfrigération ne limite pas complètement la croissance des microorganismes et donc nécessité un repiquage répétitif de la souche, avec risque de contamination et mutation.

1.2. Conservation de souches microbiennes par congélation

- Le principe : Les basses températures vont permettre d'arrêter toutes les réactions chimiques cellulaires par la cristallisation de l'eau et donc de conserver de façon parfaite. Il suffira de réchauffer pour remettre en route.
- En pratique, dès -30°C, les cinétiques des réactions chimiques sont très lentes, les évolutions sont réelles mais se font sur de nombreux mois. A -80°C, il n'y a quasiment plus aucune évolution chimique. A -196°C, plus rien ne bouge.

- Une méthode de conservation d'une souche par congélation doit donc proposer : un mode opératoire pour le refroidissement : composition du milieu avec présence de tel ou tel cryoprotecteur et un mode opératoire pour le réchauffement (notamment la cinétique du réchauffement). Les modes opératoires seront plus ou moins simples selon les capacités des souches à résister aux effets dommageables.
- ✓ **Conserver les microorganismes à -20°C, -80°C, -196°C**
- A -20°C, les températures ne sont pas assez basses et le système évolue chimiquement et pas en bien ... : on pourra conserver des bactéries, des levures, des moisissures quelques mois à quelques années.
- A -80°C, les évolutions chimiques sont vraiment très très lentes. Congélation en présence de cryoprotecteurs comme le glycérol et le DMSO. Très intéressant donc pour les conservations sur plusieurs années. D'autant que les congélateurs -80°C sont désormais abordables.
- A -196°C, dans l'azote liquide, on est aussi parti pour des conservations possibles sur de très longues durées.

2. Conservation de souches microbiennes après dessiccation

L'eau est le solvant des réactions chimiques du vivant. Après dessiccation, les réactions chimiques seront arrêtées (ou au moins ralenties) et la conservation est effective.

2.1. Dessiccations simples

Certaines bactéries supportent parfaitement la déshydratation en atmosphère naturelle sèche. Celle-ci peut être facilitée par l'utilisation d'un vide partiel ou d'agents dessiccateurs. Pour l'étape de déshydratation, les microorganismes sont répartis sur un support inerte comme du papier buvard ou du sable ou des grains de silice ... Après la dessiccation, il faut assurer un stockage parfaitement sec, en général vers 0-4°C (conteneur étanche avec dessiccateur dans une ambiance réfrigérée). La revivification s'effectue par immersion dans du milieu de culture.

2.2. Conservation de souches microbiennes après lyophilisation (cryodessiccation)

La lyophilisation permet d'obtenir une déshydratation poussée compatible avec des durées de conservation très longues.

- La souche à conserver est : congelée puis déshydratée par sublimation de la glace (évaporation de l'eau passant directement de l'état solide à l'état vapeur). Ceci exige de travailler à froid sous pression réduite ;

- puis le lyophilisat est scellé et est stocké à l'obscurité, en général en atmosphère fraîche 0-4°C.
- La lyophilisation n'est pas compatible avec tous les microorganismes. Dans certains cas elle occasionne des altérations cellulaires et génétiques.
- La revivification (réhydratation) est réalisée par ajout de milieu de culture dans l'ampoule de lyophilisat.
- Lorsque les conditions pratiques pour une souche donnée sont au point, la lyophilisation est une excellente méthode de stockage sur le long terme et de gestion aisée (pas de problème de gestion d'azote liquide ou de congélateur à -80°C ...)
- Exemples : des collections entières de souches dans les grands souchiers internationaux.

NB : Les cultures bactériennes peuvent être conservées congelées ou lyophilisées dans diverses suspensions préparées à cet effet. Il existe de nombreuses formulations de suspension mais en général on utilise le lait écrémé, un milieu à base de sérum ou le milieu de polyvinylpyrrolidone (PVP) pour la lyophilisation. Pour la congélation, on utilise un bouillon de lait écrémé ou de sang ou encore un bouillon trypticase-soja avec 15 à 20 % de glycérol.