

Partie II: Microbiologie appliquée

1. Culture et croissance bactérienne

- La croissance bactérienne se traduit par une augmentation du nombre de bactéries.
- On observe un allongement de la taille et une augmentation du volume.
- Une bactérie donne deux cellules filles.

- D'autres mécanismes de division existent chez des bactéries particulières, comme le bourgeonnement (cyanobactéries) et la fragmentation (chez les bactéries filamenteuses).
- Plusieurs techniques sont utilisées pour analyser, suivre et mesurer la croissance:

Mesures directes :

- Dénombrement des bactéries après culture.
Le résultat est exprimé en nombre de bactéries par ml.

Mesure directe du nombre de cellules:

- Faire une numération totale des cellules au microscope (lame spéciale « chambre de comptage de Petroff-Hausser »).

Mesure par filtration sur membrane:

- Très utiles lorsque le nombre des bactéries est très bas. Utilisée pour la recherche des coliformes dans l'eau, comme preuve de contamination fécale.
- On procède par filtration sur membrane de 100 ml d'eau puis la membrane est mise en culture sur Gélose.

Technique d'épifluorescence:

- Elle distingue les cellules vivantes des cellules mortes. Elle utilise l'acridine orange. En microscopie, les bactéries vivantes apparaissent vertes alors que les bactéries mortes apparaissent rouges.

Mesures indirectes de la turbidimétrie:

- Plus une bactérie pousse dans un liquide plus ce dernier devient trouble. Il y a formation d'un voile. On utilise un spectrophotomètre pour mesurer cette turbidimétrie.

Mesure indirecte par la biomasse sèche:

➤ Les micro-organismes filamentueux leur culture en milieu liquide, peut être centrifugée ou bien filtrée, puis séchée dans un dessiccateur. On procède ensuite au pesage. Plus la biomasse est élevée plus le nombre de bactérie est grand.

Croissance en culture continue:

Il y a une croissance exponentielle continue lorsque le milieu de culture est renouvelé régulièrement et que les métabolites sont éliminés en même temps.

Croissance en culture synchrone:

Les bactéries se multiplient toutes au même moment. La courbe de croissance montre des paliers successifs.

Croissance en biofilm:

Les bactéries peuvent s'attacher aux surfaces, s'associer entre elles et s'entourer d'un polymère organique pour constituer un biofilm.

2. Contrôle des microorganismes

- Un plan de contrôle a pour objectif principal la recherche des anomalies, des non-conformités, voire des fraudes. Il est basé sur un échantillonnage ciblé ou suspect.
- Organisation du plan de contrôle Microbiologique:
 - Objet contrôlé;
 - Micro-organismes;
 - Limites microbiologiques;
 - Méthodes d'analyse;

- Effectifs d'échantillonnage;
- Nombre d'unités devant respecter les limites;
- Fréquence d'échantillonnage;
- Points de la chaîne où doit s'effectuer le contrôle;
- Actions correctives en cas de non conformité

Objet contrôlé:

- Produits finis;
- Produits intermédiaires;

- Matières premières;

- Environnement.

Limites microbiologiques:

- Pathogénicité des micro-organismes;

- Caractéristiques et utilisation de l'aliment;

- Sensibilité des consommateurs;

- Degré de maîtrise du micro-organisme par les opérateurs;

- Echantillon

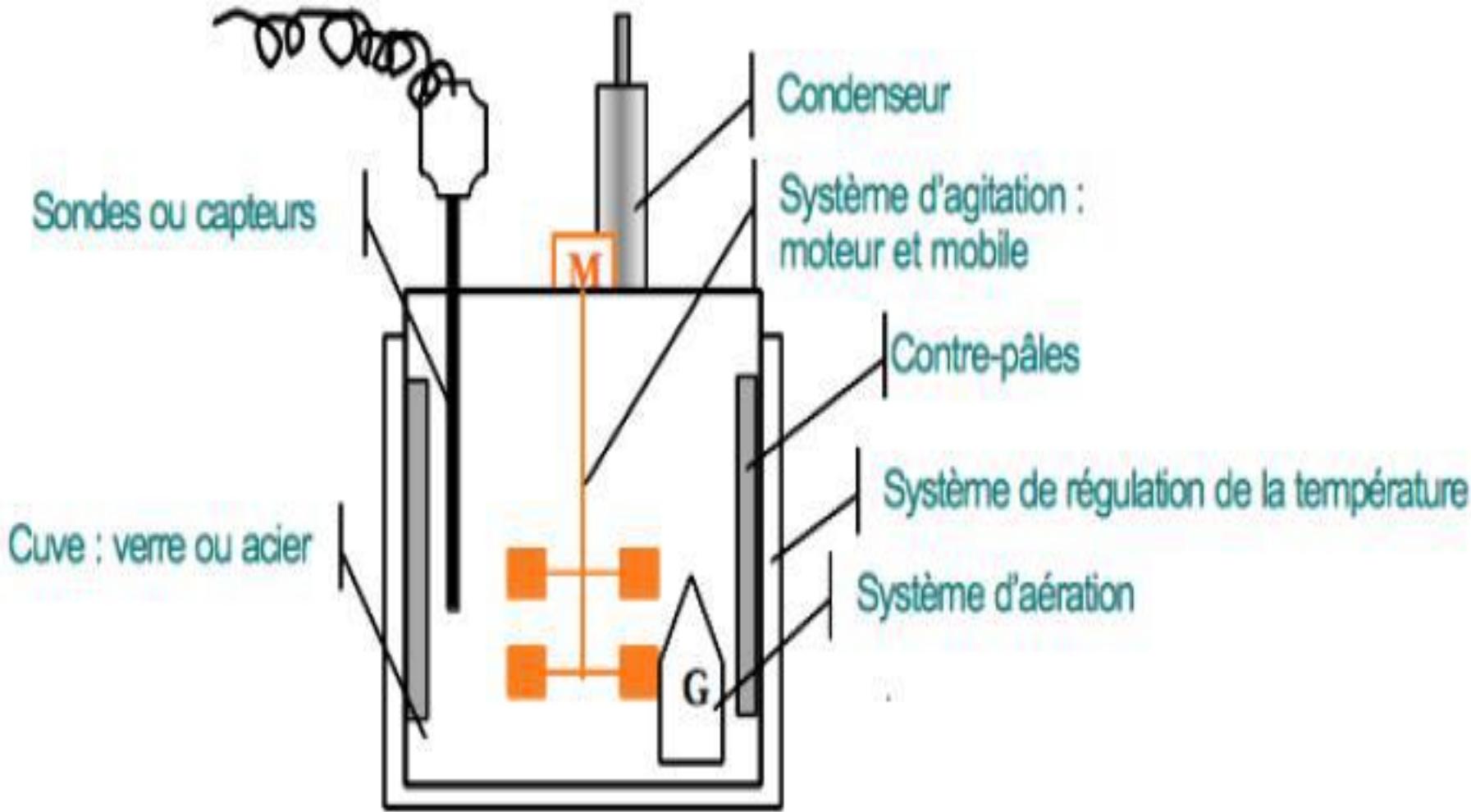
- Lot

3. Technologie des bioréacteurs

- Construits en général sur les mêmes modèles que les réacteurs chimiques, ce sont des cuves ou enceintes en verre (pour les modèles de laboratoire) ou en acier inoxydable.
- Ils sont pourvus pour réaliser des réactions enzymatiques (réacteurs enzymatiques) ou des réactions à cellules (fermenteurs ou cytoculteurs).

- Les réacteurs biologiques sont aussi appelés bioréacteurs.
- Le bioréacteur permet de contrôler les conditions de culture (température, pH, aération, etc.), et de par ce fait, il permet de récolter des informations de plus grande fiabilité.

- Les bioréacteurs industriels permettent la fabrication de nombreux produits : bière, yaourts, vaccins, antibiotiques, anticorps, vitamines, acides organiques ...
- Les bioréacteurs sont conçus tel qu'ils doivent assurer 4 grandes fonctions : - bons transferts de matière - bon transfert de chaleur - maintien de la stérilité - suivi des paramètres et conduite de régulations



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES/ WEBOGRAPHIE

- Bliefert C. et Perraud R. (2007): Chimie de l'environnement. De Boeck Supérieur, 478 p.
- Barsotti V. (2011): Recherche et caractérisation de microorganismes dans des compartiments géologiques profonds. http://ori-oai.u-bordeaux1.fr/pdf/2011/BARSOTTI_VANESSA_2011.pdf
- Collectif (2000): **Contaminations bactérienne et virale.** Editions Quae, 27p.
- Durot M. (2009): Elucidation du métabolisme des microorganismes par la modélisation et l'interprétation des données d'essentialité de gènes. Application au métabolisme de la bactérie *Acinetobacter baylyi* ADP1. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00425212/document>
- Tramier M. (2001): Imagerie des déclins de fluorescence pour l'étude de la dynamique et des interactions de macromolécules en cellules vivantes. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00003477/document>

