

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

بِلَّا تَحْلِيلٍ وَلَا تَعْلِيمٍ قَرَازُو

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

قَلِيلٌ سِيمِيقٌ خَمْلَغَوبٌ يَلْلَاجٌ ةَعْمَاجٌ

UNIVERSITE DE DJILALI BOUNAAMA-KHEMIS MILIANA

ضَرَالَا مَوْلَعٌ وَفَلِحَلُو فَعِيلَلَا مَوْلَعٌ يَكِ

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

قَبْرِيلِيلَا مَوْلَعَهْقٌ

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

## MODULE MICROBIOLOGIE APPLIQUEE ET ENVIRONNEMENTALE

### M2 MICROBIOLOGIE APPLIQUEE



Présenté par : Pr. GUETARNI H.

Année universitaire 2025-2026

Intitulé du Master : Microbiologie Appliquée

Semestre : 03

Intitulé de l'UE : Unité Fondamentale UEF1 (O/P)

Intitulé de la matière 1 : Microbiologie appliquée et environnementale

Crédits : 06

Coefficients : 03

- **Contenu de la matière :**
- Partie environnementale : Méthodes d'étude des microorganismes. Qualité des eaux et écologie virale. Diversité des microorganismes et des métabolismes. Place des microorganismes dans l'environnement avec les cycles du carbone, de l'azote et du soufre.
- Partie appliquée : Culture et croissance bactérienne. Le contrôle des microorganismes. Technologie des bioréacteurs.

# INTRODUCTION

- L'environnement est formé de système complexe.
- C'est l'ensemble des conditions naturelles ou artificielles (physiques, chimiques et biologiques) et culturelles (sociologiques) dans lesquelles les organismes vivants se développent (dont l'homme, les espèces animales et végétales).

# PARTIE I: Microbiologie environnementale

# 1. Méthodes d'étude des microorganismes:

- *Isolement:*

➤ Le principe de la technique est d'arriver à isoler le genre recherché après plusieurs opérations (dilutions successives, utilisation d'un milieu gélosé) et par la suite d'appliquer des tests de confirmation suivant les spécificités du genre étudié (épreuves biochimiques, épreuve sérologiques...).

- *Abondance des microorganismes:*

- La quantification des populations ou des peuplements peut être obtenue par simple dénombrement, en particulier lorsqu'on procède simultanément à l'identification taxinomique des organismes.
- Si les dimensions de ceux-ci sont très variées, il convient de compléter ou de remplacer les dénombrements par des mesures de biomasse ou de parties caractéristiques de celle-ci.

## Numérations

- L'examen au microscope reste sans doute le moyen le plus naturel d'observer et de compter les particules fines présentes dans un échantillon.
- Cette méthode, cependant, est limitée par la taille des objets puisque le pouvoir de résolution du microscope optique s'arrête vers  $0,1 \mu\text{m}$ .

## *A. Numérations par dilutions accompagnées de culture:*

➤ La méthode par observation directe des unicellulaires au microscope est de loin préférable, pour l'examen de la microflore totale, aux techniques de dilutions suivies de cultures sur milieux solides ou liquides, avec détermination du nombre initial le plus probable de cellules.

## *B. Fluorescence des microorganismes:*

➤ La fluorescence émise par les particules vivantes est soit due à des molécules contenues dans les cellules elles-mêmes (autofluorescence) ou à des colorants capables de fluorescence et qui se fixent sélectivement sur des molécules constitutives des cellules (fluorescence induite).

## Biovolume

### *Biovolume global de l'échantillon:*

➤ La technique s'apparente à l'hématocrite. Elle est toujours employée pour apprécier rapidement le biovolume du zooplancton par exemple. Dans ce cas, l'échantillon a déjà été concentré. Avec les petites particules il devient nécessaire d'accélérer la sédimentation par centrifugation.

- L'utilisation de gradients de densité permet aussi de séparer les grandes composantes de la population qui diffèrent suffisamment entre elles par leurs vitesses de sédimentation.

### *Volumes et volumes plasmiques:*

- L'étude microscopique des organismes permet de mesurer leurs dimensions avec précision, y compris, en microscopie photonique, la dimension parallèle à l'axe optique.

- Il importe dans bien des cas de corriger les mesures en fonction des contractions subies par les organismes durant les traitements qui ont précédé l'observation.
- Le biovolume de chaque microorganisme peut alors être apprécié plus ou moins exactement, par assimilation à des combinaisons de volumes géométriques simples.

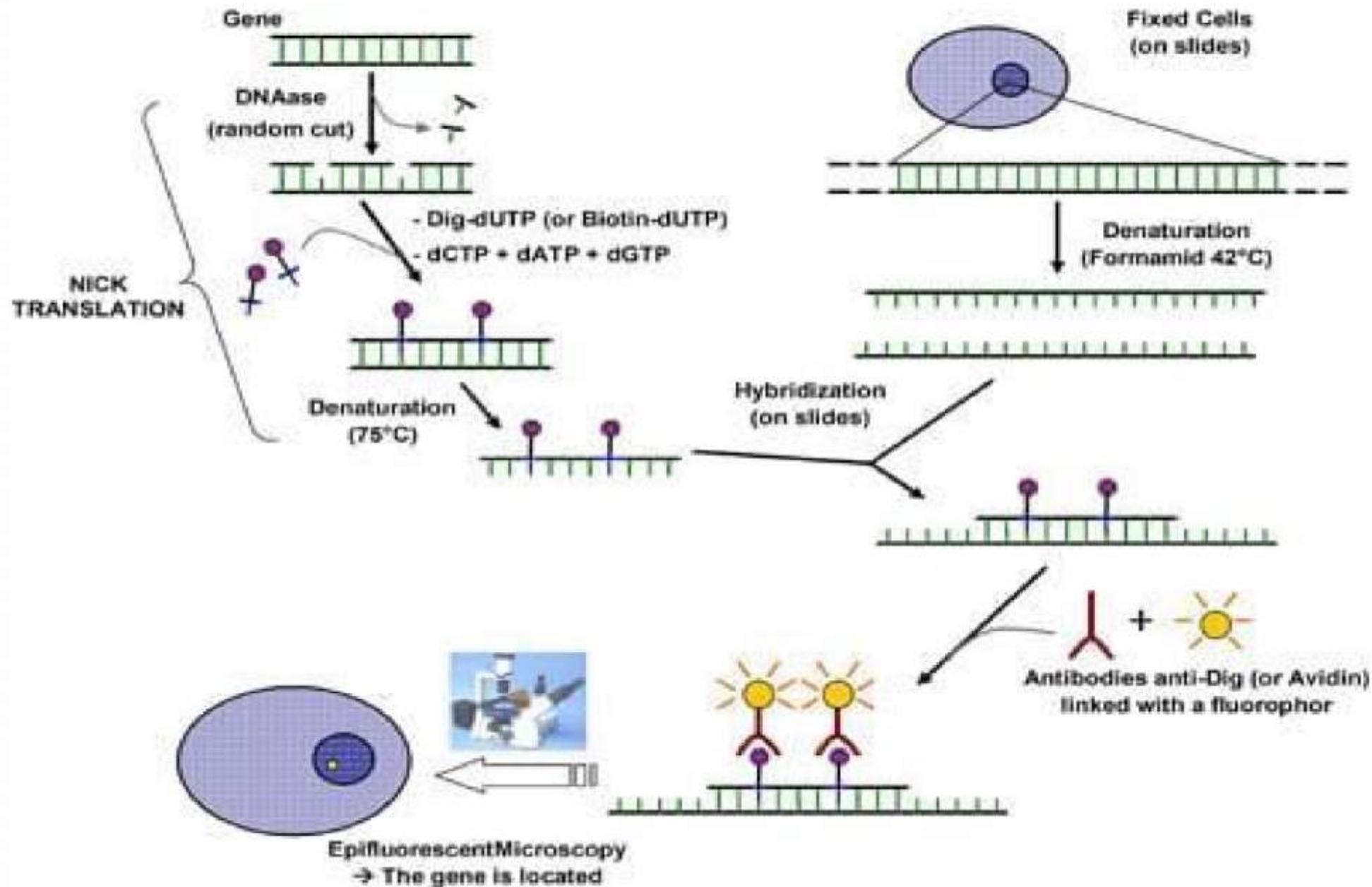
- *Outils moléculaires:*

➤ Les outils moléculaires disponibles peuvent être divisés en deux catégories selon s'ils sont couplés ou non à l'amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) des extraits d'ADN environnementaux.

### – *Outils moléculaires « directs »:*

- Les méthodes PCR-indépendantes réunissent diverses techniques de marquage des acides nucléiques grâce à l'utilisation de sondes d'hybridation marquées (fluorescentes, radioactives) telles que les techniques de « blot » et FISH (*Fluorescent in situ hybridization*).

# FISH (Fluorescent In Situ Hybridization)



– *Outils moléculaires « PCR-dépendants »:*

➤ L'amplification de fragments de gènes cibles par PCR démultiplie artificiellement le nombre de séquences initialement présentes, augmentant ainsi la sensibilité de détection tout en garantissant une haute fidélité des amplicons néo-synthétisés.

## 2. Qualité des eaux et écologie virale:

- Dans le monde, l'eau peut contenir divers contaminants d'origine naturelle, agricole, minière ou industrielle.
- L'eau est propice au développement de virus, parasites, bactéries et insectes vecteurs de maladies.
- Les eaux stagnantes sont des foyers d'infection, particulièrement dans les régions chaudes.

- L'analyse des virus présents dans l'environnement n'est pour l'instant pas réalisé en routine.
- Le seul paramètre viral inclus dans la réglementation européenne contrôlant la qualité des eaux de baignade est la présence d'entérovirus, quantifié sur culture cellulaire.

- Devant la difficulté d'isoler des virus entériques infectieux dans un contrôle de routine, il est envisagé d'avoir recours à des indicateurs de contamination.
- Les eaux de surface, la concentration apparente des virus pathogènes est généralement très faible et il devient très difficile de les détecter directement.
- Aussi, le préalable indispensable à la mise en évidence des virus dans l'eau est une étape de concentration.

### 3. Diversité des microorganismes et des métabolismes

- Les micro-organismes sont présents partout où règne la vie.
- Le groupe des procaryotes se scinde en deux domaines distincts, les *Archaea* et les *Bacteria*.
- Le domaine des *Bacteria* est extrêmement diversifié, comportant tous les procaryotes pathogènes, ainsi que des centaines d'autres espèces non pathogènes.

- Les protéobactéries sont le groupe le plus important des bactéries.
- Chez les protéobactéries se retrouvent un grand nombre de chimio-organotrophes, tel *qu'Escherichia coli*.
- Les cyanobactéries, phototrophes oxygéniques, sont phylogénétiquement apparentées aux bactéries Gram positif.

- De nombreuses espèces de bactéries ont des morphologies uniques. Ces espèces incluent le groupe aquatique des Planctomyces, qui se caractérisent par des cellules comportant un pédoncule leur permettant de se fixer à un substrat solide.
- Le genre *Chlamydia*, dont la plupart des espèces sont des pathogènes transmissibles par voies sexuelles et respiratoires.

- Le domaine des *Archaea* se divise en deux : les *Euryarchaeota* et les *Crenarchaeota*.
- De nombreux *Archaea* sont des extremophiles, dont certaines espèces sont capables de croître à des températures et des pH extrêmes.
- Par exemple, *Pyrolobus* est le procaryote le plus thermophile connu.

- Toutes les Archaea sont chimiotrophes, bien qu'*Halobacterium* puisse utiliser la lumière pour synthétiser de l'ATP, mais d'une manière différente des autres organismes phototrophes.
- Elles incluent aussi les spirochètes, bactéries de forme hélicoïdale responsables de nombreuses maladies, notamment la syphilis.

- Ces espèces contiennent toutes deux des pigments photosynthétiques similaires et sont capables d'autotrophie.
- Deux autres groupes de *Bacteria* sont phototrophes : les bactéries vertes sulfureuses (groupe des *Chlorobium*) et les bactéries vertes non sulfureuses (groupe des *Chloroflexus*).

- Les eucaryotes sont communément appelés protistes. Certains d'entre eux, tels que les algues, sont phototrophes.
- Le métabolisme marque également par sa diversité.
- Pour générer leur énergie, les bactéries tirent parti de diverses manières des potentiels d'oxydoréduction des molécules de leur environnement.

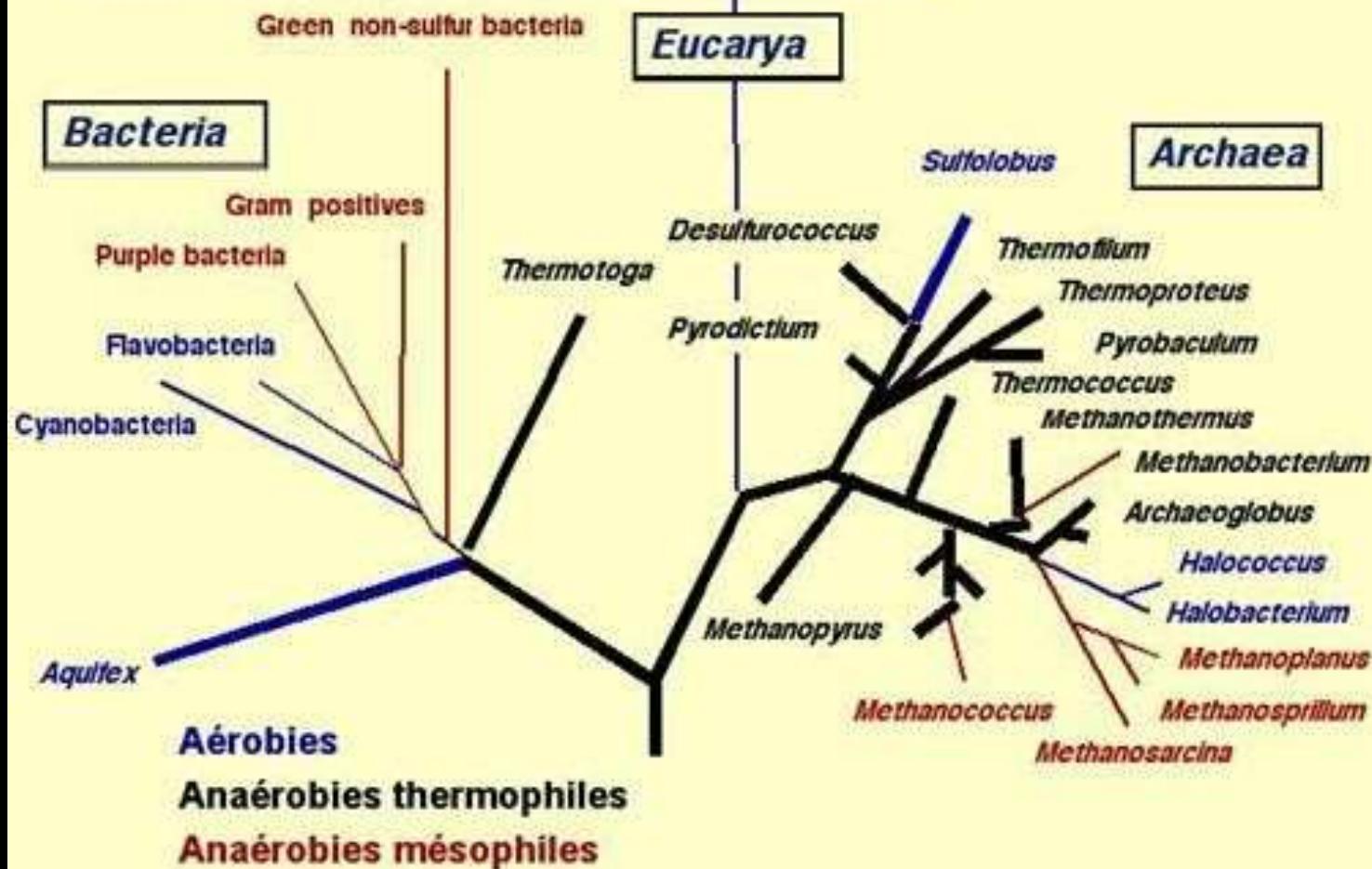
- Tandis que dans les milieux aérobies courants, les molécules organiques sont généralement oxydées en utilisant l'oxygène comme accepteur d'électron.
- En milieu anaérobie, certains organismes remplacent ce dernier par d'autres molécules organiques (par exemple lors de la fermentation) ou des formes oxydées de l'azote (ex. : nitrate, nitrite), du soufre (ex. : sulfate ou sulfite) ou de métaux (ex. : fer, manganèse, voire même certains métaux lourds).

- Des organismes génèrent leur énergie en oxydant par exemple les molécules réduites de dihydrogène, de soufre, d'azote (ammoniaque) ou de fer.
- Les métabolites se transforment chimiquement au cours des réactions métaboliques : des métabolites substrats réagissent entre eux pour donner des métabolites produits.

- Les phototrophes capturent l'énergie radiante du soleil, les chimioorganotrophes oxydent les molécules organiques pour libérer de l'énergie, tandis que les chimiolithotrophes emploient comme sources d'énergie des aliments inorganiques.
- Cependant, par définition, seuls les autotrophes utilisent l'anhydride carbonique (CO<sub>2</sub>) comme unique ou principale source de carbone.

- Les organismes qui utilisent des molécules organiques préformées, réduites, comme source de carbone sont hétérotrophes.
- La plupart des extrémophiles appartiennent au domaine des *Archæ*.
- L'industrie s'intéresse beaucoup aux enzymes permettant la croissance de microorganismes dans de telles conditions, parce qu'elles tolèrent des températures et des pH extrêmes, par exemple la *Taq* polymérase extraite de *Thermus aquaticus*.

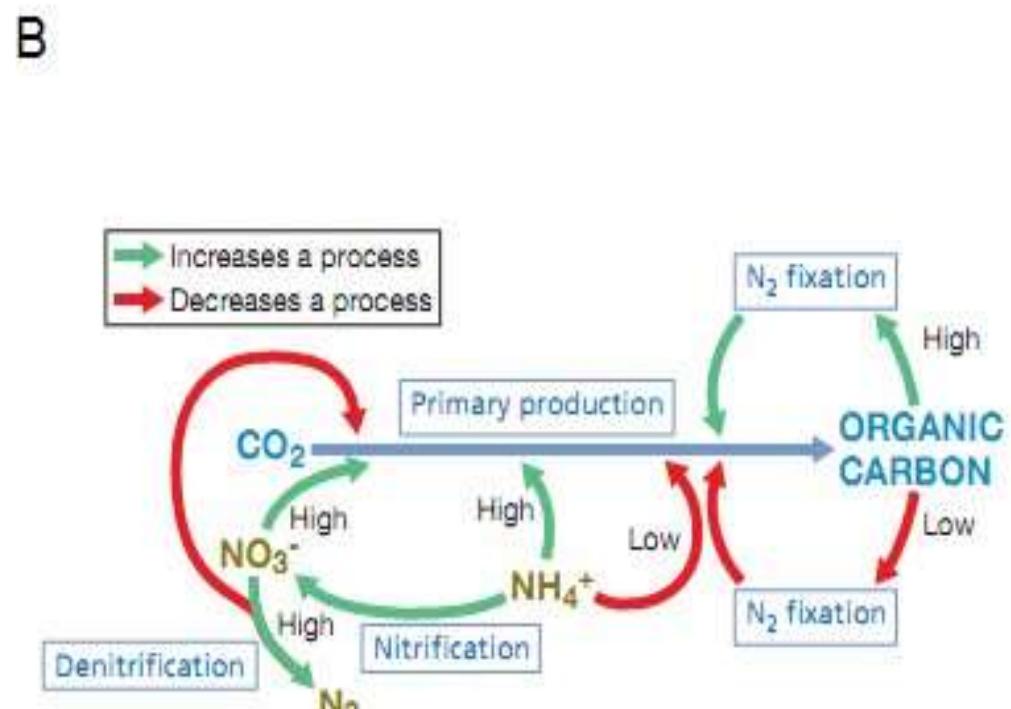
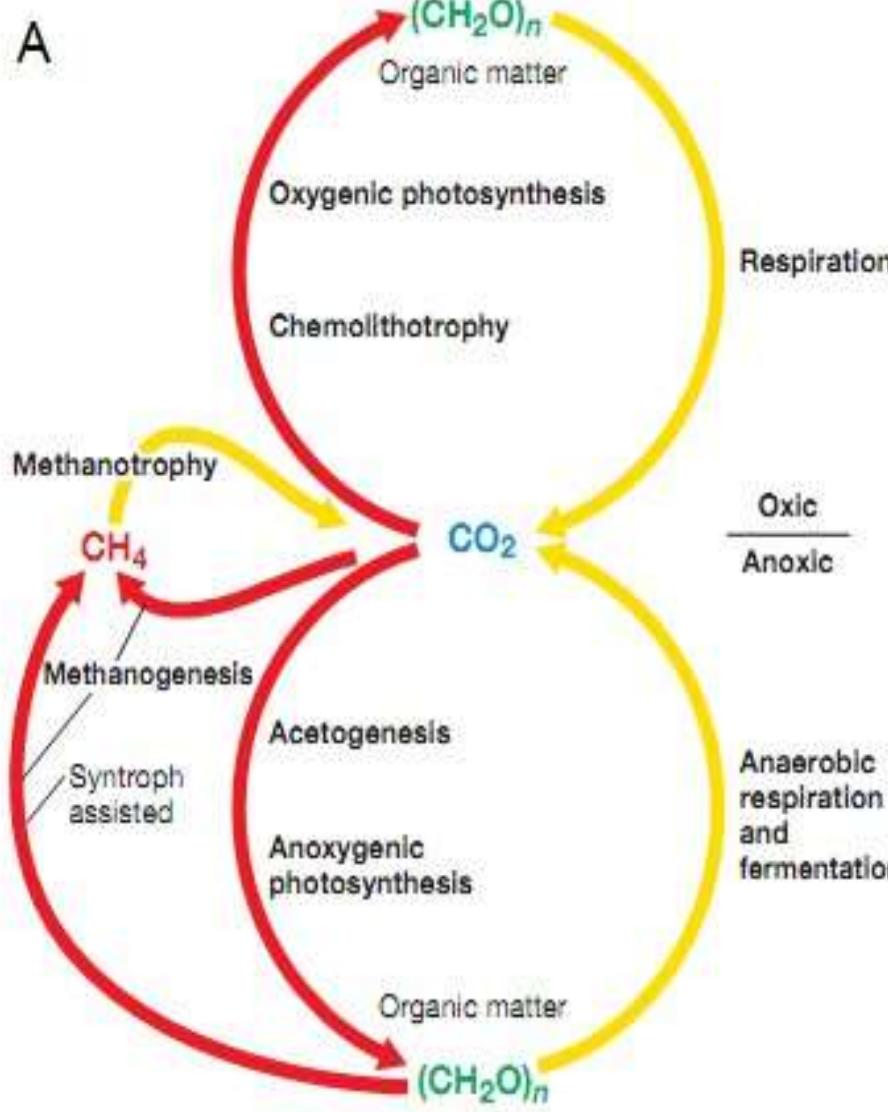
## Arbre phylogénétique universel



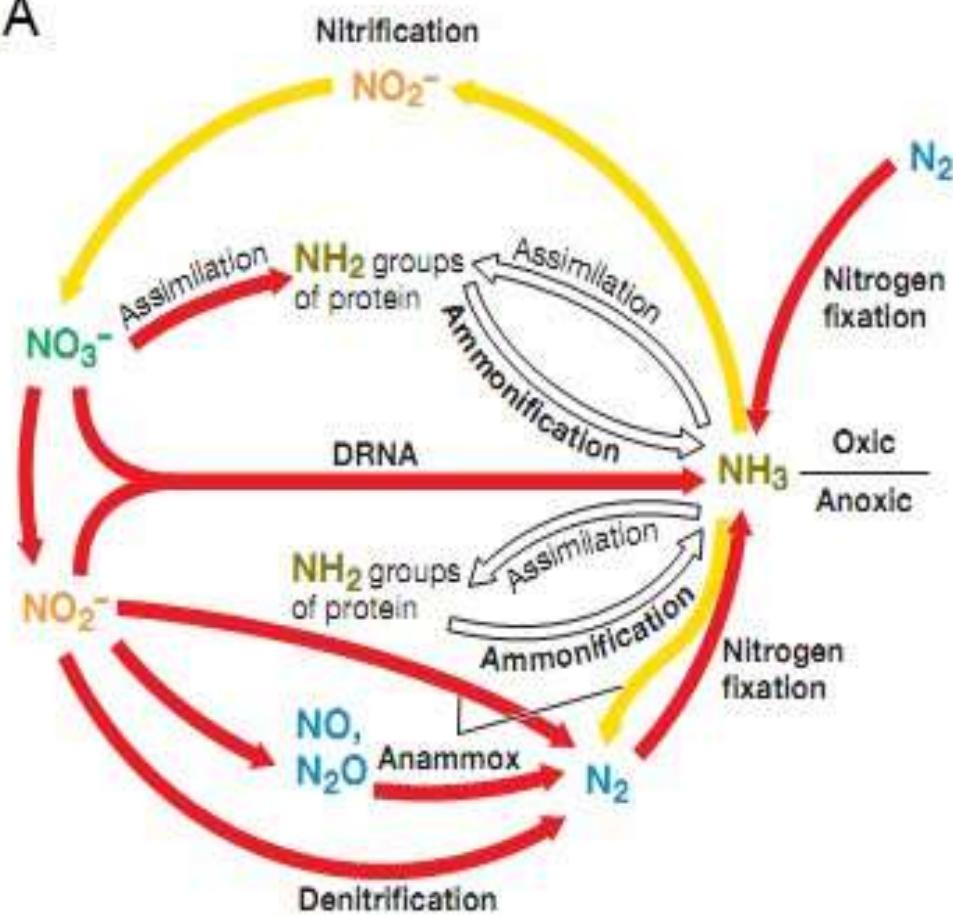
## 4. Place des microorganismes dans l'environnement avec les cycles du carbone, de l'azote et du souffre

- Le cycle des éléments nutritifs appelé aussi cycle biogéochimique lorsqu'il est appliqué à l'environnement.
- Dans les cycles biogéochimiques, les éléments sont oxydés et réduits par des micro-organismes pour répondre à leurs besoins métaboliques.

- Tous les cycles biogéochimiques sont liés, et les transformations de ces nutriments ont des répercussions au niveau planétaire.
- Des composants gazeux importants se produisent dans les cycles de carbone et de l'azote et dans une moindre mesure dans les cycles du soufre.
- Ainsi, les micro-organismes du sol ou aquatique peuvent souvent fixer des formes gazeuses de carbone et d'azote.
- Par contre dans les cycles " sédimentaires ", tels que celui du fer, il n'y pas de composant gazeux.



A



B

