

Lyophilisation de bactéries et micro-organismes comme méthode de conservation



L'avancée irrésistible de la **biotechnologie**, rend nécessaires de nouvelles **méthodes de travail qui permettent de conserver les propriétés des cultures**. Tout le monde ne le sait pas forcément, mais les micro-organismes sont essentiels dans le travail quotidien de beaucoup de laboratoires, que ce soit pour l'obtention de médicaments, pour la préparation d'aliments tels que le pain, le fromage ou certaines liqueurs, ainsi que pour de multiples investigations ou pour la fabrication de solvants et de réactifs.

En ce sens, la conservation des micro-organismes est une étape fondamentale pour assurer le plus longtemps possible, la stabilité et la pureté des cultures microbiennes. Bien qu'il existe différentes techniques de conservation, **la lyophilisation est la méthode qui répond le mieux à toutes les exigences requises.**

Table des matières

- 1 La technique de lyophilisation et son application pour conserver les micro-organismes
- 2 Conservent-ils leurs propriétés après la lyophilisation?
 - 2.1 Les avantages qu'offre la lyophilisation sont évidents :
- 3 Où et comment conserver les bactéries et les micro-organismes lyophilisés?
- 4 Quelle utilisation est donnée à la lyophilisation des microorganismes?
- 5 Probiotiques lyophilisés

La technique de lyophilisation et son application pour conserver les micro-organismes

Malgré tout, vous vous demandez peut-être, ce que la lyophilisation peut apporter à ces processus. Eh bien, la vérité est que **l'un des principes de base de la lyophilisation est précisément l'interruption de la croissance microbienne**, un facteur qui fait prévaloir la stabilité génétique de la culture et qui assure sa viabilité pendant une période prolongée.

Comme vous le savez peut-être déjà, la lyophilisation **consiste à éliminer l'eau présente dans une substance par un processus de congélation suivi d'une sublimation** (l'eau passe directement de l'état solide à l'état gazeux). Le processus de lyophilisation d'une culture se compose des étapes suivantes :

1. **FORMULATION DE L'ÉCHANTILLON :**

une formulation correcte de l'échantillon à lyophiliser est très importante pour assurer la survie des cellules pendant le processus. En substance, celle-ci consiste à **plonger les microorganismes dans une solution composée d'eau et d'une substance lyoprotectrice**. Quelle est la fonction de ces substances lyoprotectrices ? Protégez la cellule des effets dommageables qu'elle pourrait subir lors de la congélation et du séchage. Par exemple, lorsque l'eau gèle, elle forme des cristaux de glace qui peuvent perforer les cellules et les endommager à l'intérieur comme à l'extérieur. Des lyoprotecteurs sont donc placés autour d'elles pour prévenir ce risque. **Le lait écrémé, le sérum équin, certains polyalcools ou différents disaccharides** comme le tréhalose, le lactose, le maltose ou le saccharose, sont des exemples de substances lyoprotectrices. Le lait écrémé est considéré comme un lyoprotecteur idéal en raison de sa composition, de son faible coût et de sa facilité d'acquisition.

2. **CONGÉLATION :**

cette étape est évidemment indispensable pour obtenir finalement un produit de qualité complètement déshydraté. Ainsi, l'échantillon déjà formulé et introduit dans des flacons en verre, est **placé au congélateur à -20 °C pendant quelques heures**.

3. **SÉCHAGE :**

pour effectuer correctement le séchage, des conditions particulières de pression et de température doivent être respectées. Une fois les échantillons placés dans le lyophilisateur, **le système de vide doit être mis en marche jusqu'à ce que la pression nécessaire soit atteinte**, pour que la sublimation se produise (que la glace se transforme en vapeur) et que le solvant s'évapore.

4. **SCELLEMENT DES FLACONS :**

il est également important **que les flacons soient correctement**

Lyophilisation

scellés sous vide, une fois que la déshydratation de l'échantillon devient évidente.



Conservent-ils leurs propriétés après la lyophilisation?

La lyophilisation **est la méthode la plus utilisée pour la conservation des micro-organismes, car elle paralyse leur métabolisme cellulaire**, ce qui est très important lorsqu'on travaille avec des bactéries, par exemple, celles-ci étant très sensibles à la chaleur et aux changements environnementaux.



Lyophilisation

Cette méthode **permet donc la survie optimale des micro-organismes sur de longues périodes de temps, sans altérer leurs caractéristiques morphologiques et biologiques.**

Les avantages qu'offre la lyophilisation sont évidents :

- Elle permet la **STANDARDISATION** du procédé et la réplication des souches lyophilisées.
- Elle **réduit le risque de modification génétique des cellules** en limitant leur métabolisme dû au manque d'eau, et en les maintenant **VIABLES LONGTEMPS**, jusqu'à dix ans.
- Les caractéristiques génétiques des échantillons formulés **NE SONT PAS ALTÉRÉES**.
- La diminution de la teneur en humidité donne un matériau compact qui peut ensuite être de nouveau **FACILEMENT DISSOUS**.
- Il est parfois difficile de conserver certains micro-organismes à l'aide de substrats liquides. Dans ces cas-là, il est recommandé d'utiliser des **SUPPORTS SOLIDES** tels que des graines stérilisées et traitées avec des composés chimiques, afin de préserver la souche.



Analyse d'humidité en laboratoire.

Où et comment conserver les bactéries et les micro-organismes lyophilisés? Une fois le [processus de lyophilisation](#) terminé, pour conserver longtemps les flacons en verre contenant les souches de micro-organismes, **il est conseillé de les stocker dans des caissons ou dans des armoires, fabriqués en matériau résistant aux chocs et au feu**, surtout dans le cas de grandes productions. Il existe différents types de meubles similaires à des classeurs de

sécurité métalliques, qui vous permettront de restreindre l'accès à leur contenu, en plus de vous assurer que les matériaux lyophilisés ne subissent pas de dommages.

Bien que la lyophilisation **permette une conservation de longue durée, sans chaîne du froid** avec moins de 15 % d'humidité et avec une grande stabilité microbiologique, si la température ambiante est élevée, il est préférable de conserver les flacons au réfrigérateur.

Quelle utilisation est donnée à la lyophilisation des microorganismes? La préservation des micro-organismes dans le temps, est **essentielle dans le cadre de la recherche et dans certaines industries telles que la pharmacie, l'agriculture ou l'agroalimentaire**. Avant que des méthodes de conservation plus avancées telles que la lyophilisation ne soient employées, les collections de cultures souffraient de diverses complications telles que l'adaptation à l'environnement in vitro, les mutations génétiques, la perte accidentelle de cultures ou leur contamination.

La lyophilisation a permis de stocker des cultures dont les processus métaboliques étaient suspendus, durant de longues périodes, leur causant un minimum de dommages cellulaires et leur assurant une viabilité et une stabilité génétique maximales. L'industrie des produits biologiques, **recourt à elle pour conserver le plasma sanguin, le sérum, les solutions hormonales, les médicaments, les implants chirurgicaux d'artères, de peau ou d'os, ainsi que les bactéries, les virus et les levures**. Dans l'industrie alimentaire, elle est utilisée, par exemple, pour conserver les **probiotiques et les prébiotiques**.

Probiotiques lyophilisés

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants (des bactéries et des levures) qui sont bénéfiques pour la santé, lorsqu'ils sont ingérés. Ils agissent principalement sur le système digestif, en le protégeant des micro-organismes nocifs et en améliorant la digestion et la fonction intestinale.

Toutefois, **tous les compléments alimentaires ou toutes les souches de micro-organismes ne sont pas considérés comme des probiotiques**, même si certains sont étiquetés comme tels. Pour ce faire, ils doivent remplir les 4 conditions suivantes :

1. Être correctement **identifiés en matière de genre, d'espèce et de souche**.
2. Être sûrs pour l'utilisation qu'il est **prévu d'en faire**.
3. Être cautionné par au moins un essai clinique sur humains démontrant leur **efficacité**.

Lyophilisation

4. Être vivants dans le produit, en quantité suffisante pour être efficace, pendant toute leur **durée de conservation**.

C'est précisément en ce qui concerne cet aspect de la conservation dans le temps, que **la lyophilisation est considérée comme essentielle pour la conservation de ces micro-organismes probiotiques**. Grâce à la lyophilisation, qui élimine la majeure partie de l'eau des cellules, les micro-organismes restent en état de dormance ou d'inactivité, ce qui garantit leur durée de vie.

Ainsi, les **probiotiques** que l'on retrouve dans les compléments alimentaires (généralement sous forme de poudre blanche) ou ajoutés à certains aliments (yaourt, fromage, lait fermenté, etc.) **SONT VIVANTS** à leur manière. **Leur activité métabolique est suspendue** : au moyen de la lyophilisation dans le cas des compléments alimentaires et grâce à une combinaison de basse température et d'acidité dans le cas des produits laitiers.

Voici quelques exemples d'aliments contenant des probiotiques naturels : **choucroute, yogourt nature, miso ou soja fermenté, kimchi, kéfir, produits confits dans le vinaigre, babeurre**, etc.



Produits laitiers contenant des probiotiques