**Université Larbi Ben Mhidi, Oum El Bouaghi**

**Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie**

**Département des sciences de la nature et de la vie**

**Corrigé type de l`examen du module : microbiologie industrielle**

**1- Expliquer le principe et la technique de détection de l`activité enzymatique des micro-organisme.**

Le principe consiste à mettre la souche ou l’extrait enzymatique produit par la souche en présence de son substrat spécifique et de mettre en évidence le produit de la dégradation par des techniques

Chimiques et biochimiques, Spectroscopiques ou chromatographique

Les méthodes peuvent être simplifiées pour des raisons de rapidité et de gain de temps (miniaturisation , coloration , galeries))

La souche est généralement purifiée après isolement puis conservées soit par repiquages successifs soit par congélation en présence d’un cryoprotecteur

-Technique

L’activité enzymatique est réalisée soit sur milieu solide ou milieu liquide

En Milieu solide

C’est La technique de diffusion sur agar est souvent utilisé notamment pour les champignons filamenteux qui ont un équipement enzymatique très important et exo cellulaire

Les souches sont déposées directement en spot soit leur extrait enzymatique sue géloses contenant le substrat à hydrolyser

Des observations sont effectuées après l’incubation selon les réactions prévues dans le milieu gélosé

Lorsque on utilise l’extrait enzymatique au lieu de la souche , on applique la technique des cup plates . Dans la gélose contenant le substrat on creuse de s puits de 4mm , 4 par boite , on les remplit avec 100 µl de la solution enzymatique et sont incubées à température appropriée

Les activités enzymatiques apparaissent sous forme de zones claires autour de la s ouche ou du puit .

La taille du halo peut être in indicateur de mesure de l’activité enzymatique puisqu’il est proportionnel à l’activité.. Le résultat est exprimé par le calcul du rapport taille du halo /taille de la colonie

2- Quelles sont les risques qu`on peut affronté si on utilise comme méthode de conservation de la souche Streptomyces erythreus (mutant producteur d’erythromycine) , la méthode des repiquage successifs et comment peut on les corrigé.

Les risques du repiquage :

- contaminations

- Perte de caractères et apparition de caractères nouveaux par mutations

- Chute de viabilité

Ces risques augmentent avec le nombre de repiquages , dans le cas de Streptomyces erythreus mutant producteur d’erythromycine,, des le 4 ième repiquage 50 % des colonies ne sporulent plus et ne produisent que 3 % de la quantité normale d’’ ATB donc le repiquage successif est à éviter dans ce cas :

Toutefois cette méthode peut être améliorée en utilisant des milieux et des conditions de culture qui maintiennent les spores dans un état de métabolisme réduit ou les protège contre la déshydratation en utilisant des milieux pauvres (terre)) ,immersion sous huile minérale (huile de paraffine)

3- pourquoi les bactéries lactiques occupent une place importante en Microbiologie industrielle ?

- **Bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques se caractérisent par la capacité de **fermenter les glucides en acide lactique**, un acide faible, favorable à la conservation des aliments. Depuis des temps lointains et longtemps de manière inexpliquée, les bactéries lactiques occupent une place importante dans le secteur agroalimentaire (industrie laitière, charcuterie, œnologie…). De nos jours, les professionnels de la fermentation maîtrisent la complexité des phénomènes fermentaires. Par voie de fermentation, les bactéries confèreront à un produit alimentaire donné des **propriétés organoleptiques ou de conservation** recherchées.

exemple d’association de microorganismes (fabrication des charcuteries)

Les bactéries lactiques sont également reconnues pour améliorer l'équilibre de la flore intestinale chez l’homme et l’animal. Les **probiotiques** sont des produits à base de microorganismes vivants qui, ingérés en quantités déterminées engendrent un effet bénéfique pour l’hôte.

Les bactéries lactiques produisent une grande variété de peptides ayant une activité antibactérienne. Ces molécules appelées **bactériocines** sont utilisées pour assurer la sécurité sanitaire des produits laitiers. La **nisine**, par exemple, est une bactériocine produite par des souches de *Lactococcus*.

Elle permet de lutter contre le gonflement butyrique des fromages fondus et pour inhiber la croissance de germes pathogènes comme *Listeria monocytogenes* ou *Staphylococcus aureus* dans certains fromages (des camemberts ont été fabriqués avec des souches produisant de la nisine)..

4- Quelles sont les principaux procédés de fermentations utilisés en microbiologie industrielle

- Dans les systèmes de fermentation en phase liquide, trois procédés peuvent être utilisés :

-       culture discontinue (« **batch** ») : volume constant, pas de renouvellement du milieu ;

-       culture discontinue alimentée (« **fed**-**batch** ») : des substances sont ajoutées au cours de la fermentation ;

-       culture continue : le milieu de culture est renouvelé (turbidostat, chémostat).