

ACTIVITES ANTI-BACTERIENNES DES BACTERIES LACTIQUES ISOLEES D'ATELIERS FERMERS DE SALAISON

YAAKOUBI K., AMMOR S., HAYDERSAH J. & CHEVALLIER I.
Unité de Recherches "Typicité des Produits Alimentaires",
ENITA Clermont, Site de Marmilhat, F-63370.

Introduction

Les ateliers de salaison constituent des niches écologiques pour tous les micro-organismes qui influencent la qualité des produits. Généralement, pour résoudre les problèmes d'hygiène associés à la présence de germes d'altération ou pathogènes, on utilise des procédures de décontamination drastiques qui éliminent toute la flore microbienne. Cette approche conduit le plus souvent à des pertes importantes de la typicité du produit, voir même à des problèmes de fabrication. Or une partie de la valeur ajoutée d'un produit fermier provient justement de sa spécificité organoleptique, liée à la flore de l'atelier. Afin de préserver la typicité des produits fermiers, une démarche de type écologie microbienne dirigée peut être envisagée. Elle permettrait de préserver la flore technologique, notamment la flore lactique, tout en éliminant les flores néfastes. Une telle approche peut être réalisée en mettant en œuvre des procédures de décontamination sélective. L'autre voie proposée est basé sur le concept de « flore barrière » pour la maîtrise de la contamination des surfaces et donc la biopréservation des produits alimentaires produits. Le concept consiste en la colonisation des surfaces par des microorganismes d'intérêt technologique ou ne présentant pas d'effet indésirable. Ces germes doivent être très compétitifs et présenter des activités antimicrobiennes à l'encontre de la flore indésirable.

Matériel et méthodes

Un total de 87 bactéries lactiques (LAB) (36 *Lactobacillus sakei*, 22 *Enterococcus faecium*, 16 *Lactococcus garvieae*, 11 *Vagococcus carniphilus* and 2 *Enterococcus sp.*) isolées d'ateliers fermiers produisant du saucisson sec ont été criblées pour leurs activités antagonistes envers d'autres LAB ou des bactéries pathogènes ou d'altération provenant du même atelier sauf pour *Listeria innocua* (au lieu de *Listeria monocytogenes*) et *Escherichia coli*. La méthode de diffusion dans la gélose à travers des puits (Tagg et Mc Given 1971) a été utilisée pour détecter les souches présentant une activité anti-bactérienne à l'encontre de bactéries témoins indicatrices. La nature des agents anti-microbiens a été étudié selon la méthode de Shillinger et Lücke (1989). Les souches les plus intéressantes ont ensuite été testées en condition de biofilm sur filtre en fibre de verre (Ammor et al 2004).

Résultat et discussion

Parmi les 87 isolats testés, 36 présentaient des activités anti-bactériennes à l'encontre d'une ou plusieurs bactéries témoins. Parmi ces 36 espèces, 33 étaient antagonistes de *L. innocua*, mais seulement 5 *Vc. carniphilus*, 3 *Ec. faecium* et 3 *Lc. garvieae* étaient simultanément antagonistes de *Sc. aureus*. Les 5 *Vc. carniphilus* mentionnés ci-dessus ont également été trouvés comme antagonistes de *H. alvei*, une bactérie d'altération psychrotrophe à Gram-négatif, fréquemment isolée des produits carnés.

Des études plus approfondies portant sur l'ensemble de ces 11 bactéries, ainsi que sur un *Lb. sakei* et un *Enterococcus* spp. présentant une large zone d'inhibition à l'encontre de *L. innocua* ou de *Sc. aureus*, ont été menées en vue de préciser la nature du composé antibactérien produit à l'encontre de *L. innocua* et/ou *Sc. aureus*. L'addition de NaOH (1N) et de catalase a servi à éliminer, respectivement, les effets inhibiteurs des acides organiques et du peroxyde d'hydrogène. La production de bactériocine n'a pas pu être détectée dans les surnageants filtrés. Néanmoins l'application de protéases aux surnageants non filtrés a éliminé l'effet inhibiteur précédemment observé. Enfin, le chauffage à 80°C pendant 10 min des surnageants n'a pas affecté l'activité antibactérienne. En conclusion, ces 13 bactéries lactiques ont été caractérisées comme productrices de substances inhibitrices du genre bactériocine (« bacteriocins-like inhibitory substance » BLIS) à l'encontre de *L. innocua* et/ou de *Sc. aureus*. Par ailleurs, nous avons détecté pour la première fois une BLIS produite par *Vc. carniphilus*. Enfin, une BLIS produite par *Lc. garvieae* active sur *L. innocua* et *Sc. aureus* a également été caractérisée pour la première fois.

Par ailleurs, l'effet antibactérien de ces bactéries lactiques présentant des activités antibactériennes à l'encontre de *L. innocua*, *Sc. aureus* et/ou *H. alvei* a été testée en conditions de biofilms, le mode réel d'attachement des bactéries au niveau des surfaces et des équipements.

Les résultats ont montré qu'en aérobiose et en absence d'une matrice carnée, *Lb. sakei* n'inhibait pas la croissance de *L. innocua*. Par contre les souches d'*Ec. faecium* et de *Vc. carniphilus* inhibaient significativement *L. innocua*. Ces deux espèces sont capables en plus de *L. innocua* d'inhiber la croissance de *Sc. aureus* et/ou *H. alvei* en biofilms. Les taux de réductions pouvaient atteindre 2, 2,7 et 2,4 log₁₀ u.f.c./ml, respectivement, pour *L. innocua*, *Sc. aureus* et *H. alvei*.

Les résultats ont aussi montré que *L. innocua*, *Sc. aureus* et/ou *H. alvei* étaient plus sensibles à la présence de la bactérie lactique productrice de BLIS lorsqu'elles sont cultivées sous forme planctoniques que lorsqu'elles sont cultivées sous forme sessile.

Conclusion

Au cours de notre étude dont le but était de simuler les activités antibactériennes pouvant avoir lieu au sein de l'atelier et de sélectionner des souches pouvant jouer le rôle de flore de barrière, nous avons montré que 13 souches lactiques étaient productrices de bactériocines à l'encontre de *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* et/ou *Hafnia alvei*. Nous avons décrit pour la première fois une bactériocine produite par *Vc. carniphilus*.

Un total de 5 *Vc. carniphilus*, 3 *Ec. faecium*, 1 *Lb. sakei* et 1 *Enterococcus* sp. ont été testées pour leur effet antibactérien à l'encontre de *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* et/ou *Hafnia alvei* en conditions de biofilms bi-espèces.

Les résultats obtenus ont montré que les 3 souches de *Vc. carniphilus* présentaient des effets antibactériens plus prononcés que les 2 souches d'*Ec. faecium*. Mais, étant donné le manque d'information sur la signification clinique de *Vc. carniphilus* et considérant que *Ec. faecium* a été préconisé comme ferment dans la production de saucisson sec (Leroy & de Vuyst, 2003), nous suggérons l'utilisation d'une souche d'*Ec. faecium* comme « flore barrière » au niveau des surfaces et des équipements de l'atelier.

Des études plus approfondies doivent être envisagées pour tester le comportement de ces deux souches en atelier et pour évaluer leurs effets sur le produit final. Un soin particulier doit aussi être porté à l'innocuité de la souche ; notamment en vérifiant l'absence du gène *vanA*.

D'autres études doivent être menées pour purifier, caractériser et étudier le mode d'action et la cinétique de production des ces BLIS. L'enjeu à long terme, surtout pour l'agro-industrie, est de trouver un moyen naturel de diminuer l'utilisation des conservateurs ou d'augmenter les dates limites de conservation.