

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par : Zahar chaima

Tadjouri nesrine

Kharfi nour Elhouda

Intitulé

**Applications des bactériocines dans le domaine
alimentaire**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. Areich Mounira	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
Dr. Medjekal Samir	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur
Dr. Guetouache Mourad	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Encadreur

Année universitaire : 2022/2023

Dédicace:

nous dédions ce mémoire

A ceux qui nous sont les plus chers, nos parents.

*A nos mères, hada, Fatima djemaa qui est toujours présentes et continue de l'être
pour faire nos bonheurs.*

*Ainsi qu'à nos pères, Adelhamid zahar ahmed kherfi et abdellah tadjouri, pour
ses encouragements incessants*

A ma sœur nassrine et amal

A ma cousine ikram

A toutes nos familles.

chaima : A mes chères amies surtout : ikram, wissam, bouthaina, aya.

Nassrine: A mes chères amies abir feriel hadil hadjer

A tous mes enseignants et les administrateurs du département de biologie.

A tous les étudiants de la promotion de microbiologie.

*A toutes les personnes pour leur aide et surtout le prof harar pour ses efforts qui
n'ont aidé à la réalisation de ce mémoire .*

Remerciement

Dieu soit loué pour la conclusion de ce mémoire, avec bonté et bénédiction, et pour l'impact de ce succès, nous tenons à remercier chacun de nos encadreurs, le Dr Geutouache Mourad, pour son soutien et ses conseils continus. Nous remercions également nos professeurs du département de microbiologie de nous avoir poussés vers le succès et le progrès dans la recherche scientifique et le cheminement universitaire. Merci à toutes les personnes qui nous ont encouragés et ont contribué à notre succès. Merci à notre famille et nos proches pour leur présence constante.

Merci pour les circonstances qui nous ont renforcés et nous ont rendus responsables de notre travail.

SOMMAIRE

SOMMAIRE.....	4
Abstract:.....	7
ملخص :.....	8
Résumé:.....	i
Liste des abréviations :.....	ii
Liste des figures:.....	iii
Liste des tableaux:.....	iv
Introduction :.....	1
CHAPITRE I. Généralité sur les bactéricines.....	2
1- Définition:.....	2
2- Classification des bactériocines:.....	2
3- Spécificité des bactériocines:.....	5
4- Les mécanismes d'action des bactériocines:.....	7
i. Les lantibiotiques:.....	7
ii. Les bactériocines de classe II.....	8
iii. Les bactériocines de classe III :.....	8
5- La production et le conditionnement des bactériocines.....	9
i. La production des bactériocines.....	9
ii. Le conditionnement des bactériocines.....	10
6- La combinaison de différentes bactériocines pour augmenter la durée de vie du produit 11	
7- La combinaison des bactériocines avec d'autres agents.....	11
8- Applications médicales.....	12

9-	Production et purification des bactériocines.....	13
CHAPITRE II. Les applications des bacteriocines dans le domaine alimentaire :		22
1-	Applications dans l'industrie alimentaire:.....	23
i.	Combinaison de la nisine et d'autres agents antimicrobiens.....	24
ii.	Combinaison de la nisine et des méthodes de traitement à haute pression.....	24
iii.	Emballage antimicrobien des produits alimentaires.....	25
2-	Utilisation stratégique et application des bactériocines dans la conservation des aliments :.....	26
3-	Facteurs influençant l'activité des bactériocines dans les produits alimentaires.....	29
i.	Composition de l'aliment.....	29
ii.	. Traitements thermiques.....	29
iii.	Flore autochtone.....	29
4-	Bactériocines : applications dans la conservation des aliments.....	32
a.	La biopréservation:.....	32
b.	Application des bactériocines dans la bioconservation des aliments.....	32
i.	Applications pour le lait et les produits laitiers.....	32
ii.	Applications pour les fruits et légumes.....	33
iii.	Applications de la viande et des produits carnés.....	33
iv.	Applications pour le poisson et les fruits de mer.....	33
v.	Applications pour le pain et les produits de boulangerie.....	34

CONCLUSION

Références bibliographique

Abstract:

Bactériocines are antimicrobial peptides, produced by many bacterial species directed against homologous or more distant species; they are divided into four classes according to Klaenhammer (1993). Their mode of action has also been analyzed and different models exist to explain the perforation of the membranes of the target cells of these bactériocines. The formation of membrane pores is done via a protein receptor or by direct insertion into the phospholipid bilayers (l'antibiotics). The understanding of the mechanisms of production, regulation, immunity, but also of the mode of action of bactériocines and emerging resistances needs to be refined at the molecular level before real applications can be considered.

Key words: Bactériocines; Antimicrobials, Lactic Acid Bacteria, Applications

ملخص :

البكتيريوسينات هي الببتيدات المضادة للميكروبات التي تنتجها العديد من الأنواع البكتيرية والموجهة ضد الأنواع المثيلة أو الأكثر بعدا مثل ، وهي تنقسم إلى أربعة أقسام وفقا لكلا أنهامر(1993). (كما تمتحليل طريقة عملها ونماذج مختلفة لشرح وجود ثقب في أغشية الخلايا المستهدفة من هذه البكتيريوسينات .تشكيل المسام يتم عبر مستقبلات بروتينية .أو عن طريق الإ نسلال المباشر في الطبقات الثنائية الفسفوليبيدية فهم آليات الإنتاج ،التعديل ،تنظيم الحصانة ، ولكن أيضا في طريقة عمل البكتيريوسينات ومقاومة. ليتم تكريره في المستوى الجزيئي قبل أن يتمكنوا من النظر في تطبيقات لبكتيريا منتجة للبكتيريوسين مثل Les Bactirie Lactique حقيقية في منتجات الألبان واللحوم.

الكلمات الرئيسية: البكتيريوسينات. مضادات الميكروبات ، بكتيريا حمض اللبن ، التطبيقات

Résumé:

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens, produites par de nombreuses espèces bactériennes dirigées contre des espèces homologues ou plus éloignées, elles sont réparties en quatre classes selon Klaenhammer (1993). Leur mode d'action a été également analysé et différents modèles existent pour expliquer la perforation des membranes des cellules cibles de ces bactériocines. La formation de pores membranaires se fait via un récepteur protéique ou par une insertion directe dans les bicouches phospholipidiques (antibiotiques). La compréhension des mécanismes de production, de régulation, d'immunité, mais aussi du mode d'action des bactériocines et des résistances en émergence demande à être affinée à l'échelle moléculaire avant de pouvoir envisager de réelles applications de la bactérie productrice des bactériocines comme bactérie lactique dans les produits laitiers et carnés.

Mots clés: Bactériocines; Antimicrobiens, Bactéries Lactiques, Applications

Liste des abréviations :

ATP : Adénosine Triphosphate

N-terminal : Amino-terminal

ATB : Antibiotiques

EDTA: Acide éthylènediamine-tétra-acétique

LTA: L'acide lipoteichoïque

LA: L'acide lactique

IF : Facteur d'induction

Liste des figures:

Figure 1.1: Séquence et structure de lantibiotiques de type A (Nisine), B (Mersacidine) et d'un lantibiotique « two-peptides » (Lacticine 3147 A1 et A2) – Sequence and structure of a type A lantibiotic (Nisin), a type B lantibiotic (Mersacidin) and a « two-peptide» lantibiotic (Lacticin 3147 A1 and A2).	5
Figure 1.2: Mode d'action des bactériocines de bactéries lactiques	8
Figure 3: Illustration SHOWING applications of bactériocines in different SECTORS	23
Figure 4: Facteurs influençant les bactériocines produites in situ par des souches bactériocinogènes ou ajoutées aux systèmes alimentaires.....	34

Liste des tableaux:

Table 1: Séquence de quelques bactériocines de classe II – <i>Sequence of some class II bactériocines</i>	3
Table 2: Classification des bacteriocines.....	5

Introduction

Introduction :

On assiste, depuis quelques années, à un développement extraordinaire des connaissances de base sur les bactériocines de bactéries lactiques, que ce soit sur le plan de leur mode d'action et depuis peu, de la relation entre leur structure et leur fonction, ou sur le plan de l'organisation des gènes impliqués dans leur production. En regard de ces travaux d'un haut niveau scientifique, l'approche plutôt rudimentaire des travaux consacrés à l'activité de certaines bactériocines dans divers aliments peut surprendre.

On se contente généralement de montrer que l'addition de quantités variables de ces substances entraîne la perte de viabilité d'une partie de la population bactérienne cible, en général des *Listeria*. Bien que les facteurs qui affectent l'activité d'une bactériocine soient connus de façon générale, un utilisateur éventuel ne peut déduire des expériences décrites, si la bactériocine utilisée l'est dans des conditions satisfaisantes, ou si son efficacité peut être grandement améliorée.

Il n'est pas indiqué non plus en quoi la nouvelle bactériocine présente un avantage sur les substances de même nature décrites auparavant, la nisine en particulier. Malgré la découverte d'un certain nombre de bactériocines actives vis-à-vis de bactéries indésirables dans les aliments, en particulier vis-à-vis de *Listeria monocytogenes*, la nisine reste la seule substance antibactérienne utilisée industriellement, et encore, son utilisation semble limitée à quelques aliments, comme les fromages fondus dans lesquels elle empêche le gonflement dû au développement de *Clostridia*.

Les problèmes soulevés par la présence éventuelle des *Listeria* dans les aliments d'origine animale expliquent sans doute l'importance des travaux réalisés aux États-Unis sur l'activité des bactériocines les plus intéressantes dans divers aliments, en particulier dans la viande et dans des produits carnés élaborés. S'ajoute à cela la tendance à augmenter la durée de commercialisation de certains d'entre eux tout en réduisant l'usage d'agents antibactériens chimiques (nitrites, par exemple). (J Richard, 1996)

Nous commençons par une petite introduction qui ouvre la voie au sujet, cette thèse est divisée en deux chapitres 1 et 2, où nous avons parlé dans le premier chapitre de généralités sur la bactériocine, définissant les types et mécanisme d'actions, et conditions de travail, et enfin comment produire la bactériocine.

Ensuite, nous sommes passés au deuxième chapitre, où nous avons parlé des utilisations des bactériocines dans le domaine alimentaire, comment les utiliser, les facteurs d'influence et les domaines de leur utilisation dans les aliments tels que les fruits de mer, les fruits et les produits laitiers.et ; nous avons conclu la thèse par une conclusion qui résume les résultats de nos recherches.

Chapitre I : Généralité sur Les bactériocines

CHAPITRE I. Généralité sur les bactéricines

1- Définition:

Les bactériocines des bactéries lactiques sont des peptides antimicrobiens de faible poids moléculaire. Elles ont une activité inhibitrice contre les bactéries qui sont étroitement liées aux souches productrices et un spectre inhibiteur étroit aux souches productrices. et un spectre inhibiteur étroit. Néanmoins, la plupart d'entre eux ont une activité contre certaines bactéries pathogènes d'origine alimentaire comme *Listeria monocytogenes*.

L'application des bactériocines ou de bactéries lactiques productrices de bactériocines dans les produits alimentaires pour inhiber les bactéries pathogènes, d'acide lactique produisant des bactériocines dans les produits alimentaires afin d'inhiber les bactéries pathogènes ou celles responsables de la détérioration des aliments. Cette revue se concentre sur la classification, structure, fonction, mode d'action, biosynthèse et applications alimentaires actuelles des bactériocines issues des bactéries lactiques (Dortu et Thonart, 2009).

2- Classification des bactériocines:

Selon la proposition de Klaenhammer, les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont divisées en quatre types (1993). Ces quatre classifications sont :

Classe 1. Le terme "lantibiotiques" désigne des peptides de taille inférieure à 5 kDa, stables à la chaleur et contenant des acides aminés naturels formés de manière post-transcriptionnelle, à savoir la lanthionine, l' -méthyl lanthionine, la déhydrobutyrine et la déhydroalanine. Ils peuvent être divisés en deux groupes : la classe Ia, qui est constituée de peptides liés hydrophobes cationiques comptant jusqu'à 34 acides aminés, et la classe Ib, qui est constituée de peptides globulaires chargés négativement ou sans charge et comptant jusqu'à 19 acides aminés.

En outre, certains lantibiotiques sont constitués de deux peptides qui agissent ensemble pour avoir le même effet que la lacticine 3147.

Classe II. Peptides de taille inférieure à 10 kDa, stables à la chaleur et ne comprenant pas d'acides aminés modifiés. Leur point isoélectrique varie de 8 à 10. Les séquences

de quelques bactéries appartenant à cette classe sont présentées dans le tableau 1. Il y a trois sous-classes dans cette classe.

- ▶ Les bactéries de la **sous-classe IIa** ont toutes une portion hydrophobe N-terminale avec la séquence consensus YGNGV, un pont disulfure, et une portion C-terminale hydrophobe ou amphiphile moins bien conservée qui détermine la spécificité d'action. Ces bactéries contiennent entre 27 et 48 acides aminés. Elles ont toutes une activité contre *Listeria monocytogenes*. Certaines des bactéries de cette sous-classe ont également un deuxième disulfure dans leur région C-terminale, qui semble être significatif dans la stabilisation de la structure secondaire. De plus, il semble que cela leur conférerait une plus grande activité antimicrobienne, une meilleure résistance à l'exposition à des températures élevées et un champ d'action plus large.

- ▶ Les bactériocines nécessitant deux peptides pour avoir une activité font partie de la **sous-classe IIb**. Il est possible de distinguer deux types différents de bactériocines de classe IIb : le type E (Enhancing), dans lequel la fonction de l'un des deux peptides est d'augmenter l'activité de l'autre, et le type S (Synergy), dans lequel les deux peptides sont complémentaires l'un de l'autre.

- ▶ Les bactéries qui ne peuvent être classées dans aucune des autres sous-classes se retrouvent dans la **sous-classe IIc**.

Classe III. Protéines dont la taille est supérieure à 30 kDa et qui sont sensibles à la chaleur. Ces bactériocines sont entièrement différentes, tant par leur structure que par leur mode d'action, des autres bactériocines fabriquées par les bactéries lactiques. Les seuls antibiotiques de cette famille sont l'helvéticine J produite par *Lactobacillus helveticus* A, l'entérolysine A produite par *Enterococcus faecium*, la zoocine A produite par *Streptococcus zooepidemicus*, et la milléricine B produite par *Streptococcus milleri* (Dortu et Thonart, 2009).

Tableau 1: Séquence de quelques bactériocines de classe II (Dortu et Thonart, 2009)

Classe IIa: « Pediocin-like bacteriocin »	
Mésentéricine Y105	MTNMKSVEAYQQLDNQNLKKVVGGKY ^Y GN ^V HC ^T KS ^G CS ^V NWGEAASAGI ^H RLANGGNGFW
Sakacine P	-----MEKFIELSLKEVTAITGGKY ^Y GN ^V HC ^T GK ^H S ^C TVDWGTAIGNIGNNAAANWATGWNAGG
Curvacine A	-----MNNVKELSMTELQTTGGARS ^Y GN ^V YC ^N NK ^K C ^W VNRGEATQSIIGGMISGWASGLAGM
Piscicoline 126	-----MKTVKELSVKEMQLTTGGKY ^Y GN ^V SC ^N K ^N G ^C TVDWSKAIGIIGNNAAANLTTGGAAGWNKG
Carnobactériocine Bm1	-----MKSVKELNKKEMWWINGGAIS ^Y GN ^V YC ^N KE ^K C ^W VNKAENKQAITGIVIGGWASSLAGMGH
Pédiocine PA-1	-----MKKIEKLTEKEMANIIGGGKY ^Y GN ^V TC ^G K ^H S ^C SV ^D WGKATTCIINNGAMAWATGGHQGNHKC
Entéroccine A	-MKHLKILSIKETWLIYGGTTHSGKY ^Y GN ^V YC ^T KN ^K C ^T VDWAKATTCIAGMSIGGFLGGAI ^P GK ^C
Sakacine G	-----MKNTRSLTIQEIKSITGGKY ^Y GN ^V SC ^N SH ^G CS ^V NWQAWTC ^G VNHLANGGHGGVC
Classe IIb: « Two-peptides bacteriocin »	
ABP-118	α KRGPN ^C VGNFLGGLFAGAAAGVPLGPAGIVGGANLGMVGGALTCL
	β KNGYGGSGNRWVHCGAGIVGGALIGAIGGPWSAVAGGISGGFTSCR
Lactocine 705	α MDNLNKF ^K LS ^D NK ^L QATIGG
	β MESNKLE ^F ANIS ^N K ^D LNKITGG
Lactococcine MN	M IRGTGKGLAAAMVSGAAMGGAIGAFGGPVGAIMGAWGGAVGGAMKYSI
	N GSIWGAIAGGAVKGAIAASWTGNPVGIGMSALGGAVLGGVTYARPVH
Plantaricine EF	E FNRGGYNFGKSVRHVVDAIGSVAGIRGILKSIR
	F VFHAYSARGVRNNYKSAVGPADWVISAVRGIHG
Classe IIc	
Plantaricine A	MKIQIKGMKQLSNKEMQKIVGGKSSAYS ^L QMGATAIKQVKKLFKKWGW
Lactococcine A	MKNQLNFNIVSDEELSEANGGKLTFIQSTAAGDLYNTNTHKYVYQQTQNAFGAAANTIVNGWMGG AAGGFGLHH
Lactococcine 972	MKTKSLVLALSAVTLFSAGGIVAQAEGTWQHG ^Y GVSSAYS ^N YHHGSKTHSATVVNNNTGRQ ^G KDTQ RAGVWAKATVGRNLTEKASFY ^N FW

Table 2: Classification des bacteriocines (reis *et al*, 2012).

Classes	Caractéristiques principales	Stabilité thermique	Exemple
Classes I Lantibiotiques	-Cycles thioester dans la séquence. -Poids moléculaire <5kDa.	stable	Nisin Lactacine 481 Camocine U149 Lactocine S
Classes II Peptide antilisteria	-II a poids moléculaire <10 KDa -II b association de 2 peptides pour l'activité, poids moléculaire <10KDa	Stable stable	Lactoeoccine MMF2 Sakasine G Lactocine G Lactacine F
Classes III	Poids moléculaire <30KDa	sensible	Helvétieine J Helvétieine v1829 Lactacine A et B
Classes IV	Mélange identifié de protéine, lipide et carbohydrate	stable	Plantarcine s Leuconocin Lactocine 27 Pédiocines II

3- Spécificité des bactériocines:

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens uniques. En effet, la souche productrice doit se protéger de ses propres peptides, les bactéries productrices de bactériocines doivent donc développer une sorte de stratégie immunitaire. En plus d'un

gène de structure, d'un gène post-traductionnel et d'un mécanisme d'exportation, le groupe de genes de la bactériocine code également pour une protéine d'immunité. Cette dernière assure la protection de la bactériocine de diverses manières, en fonction du mécanisme d'action de la bactériocine.

L'immunité aux colicines formant des pores est médiée par une petite protéine membranaire de 11 à 18 kDa. Une interaction directe et spécifique au sein de la membrane interne entre la protéine immunitaire et la partie C-terminale de la colicine permet de protéger les cellules. Il a été démontré que les hélices transmembranaires sont les principaux motifs reconnus par les protéines immunitaires. Les colicines ciblant des enzymes intracellulaires telles que la nucléase sont inactivées par la liaison directe de la protéine d'immunité (environ 10 kDa) avec le domaine actif de la colicine conduisant à un hétérodimère de 71 kD et hétérodimère.

L'immunité de la microcine reste encore opaque, tandis que celle envers les lantibiotiques a été récemment revue. L'immunité contre les lantibiotiques est conférée par une lipoprotéine interceptant les lantibiotiques au niveau de la membrane cytoplasmique et/ou par un complexe de protéines membranaires de type transporteur ABC.

L'immunité aux bactériocines de classe II produites par les bactéries lactiques (BL) a été récemment clarifiée. Elle implique que les composants du système mannosephosphotransférase sont des récepteurs à la fois pour la bactériocine et la protéine d'immunité. Pour définir le rôle des bactériocines dans la production de bactéries est encore un défi. Sa production comporte des avantages pour coloniser ou défendre des niches écologiques pour les bactéries productrices (Desriac *et al*, 2010).

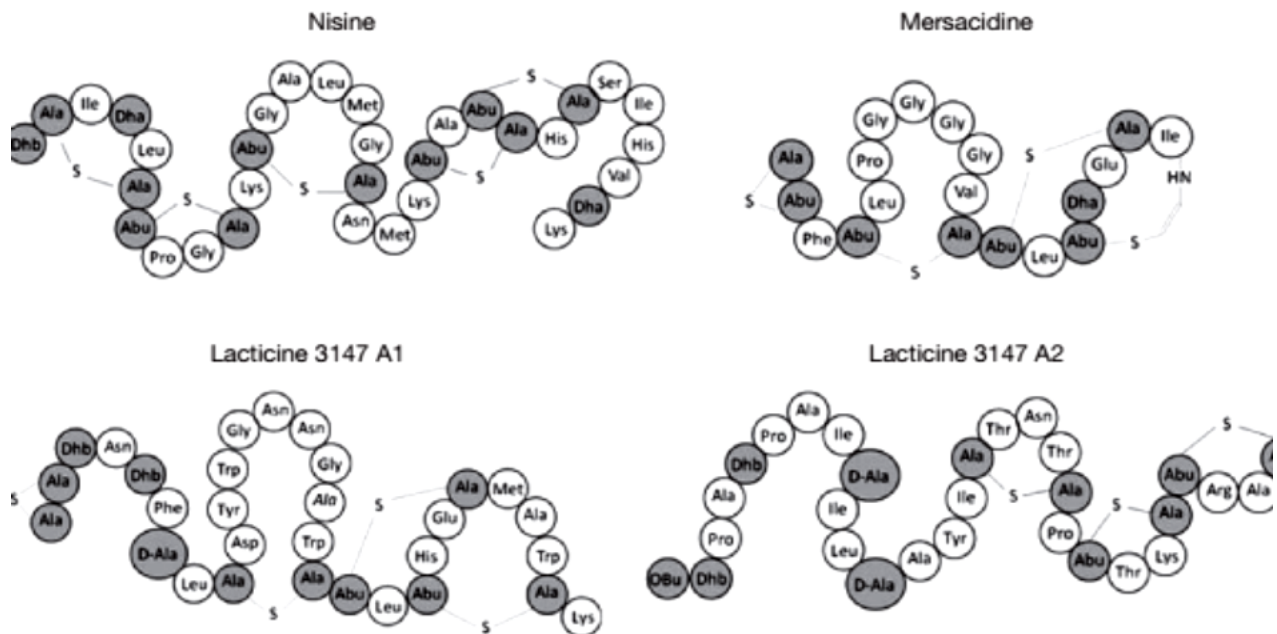


Figure 1: Séquence et structure de lantibiotiques de type A (Nisine), B (Mersacidine) et d'un lantibiotique « deux-peptides » (Lacticine 3147 A1 et A2) – Sequence and structure of a type A lantibiotic (Nisin), a type B lantibiotic (Mersacidin) and a « deux-peptide» lantibiotic (Lacticin).

(Dortu et Thonart, 2009).

4- Les mécanismes d'action des bactériocines:

Le principal site d'activité des bactériocines est la membrane cellulaire, ce qui explique pourquoi elles sont inactives contre les bactéries à Gram positif. Les mécanismes par lesquels les bactériocines agissent sur les membranes varient cependant.

i. Les lantibiotiques:

Interagissent avec la membrane cellulaire par des interactions électrostatiques ou en se connectant à certains récepteurs comme le lipide II (undecaprenyl-pyrophosphorylMurNAc-pentapeptides-GlcNAc), un précurseur des peptidoglycanes. En raison de ce lien, les lantibiotiques ont le potentiel de créer d'énormes brèches non spécifiques dans la membrane cytoplasmique, ce qui entraînera un écoulement rapide de petits composants cytoplasmiques tels que les ions, les acides aminés, l'ATP, etc.

Cette augmentation de la perméabilité membranaire entraînera la dissipation des deux composantes de la force de motilité protonique, l'arrêt rapide des activités cellulaires et la mort de la cellule. En plus d'augmenter la stabilité des pores formés et de diminuer la quantité de lantibiotique nécessaire à leur formation, l'interaction avec le lipide II peut également inhiber la synthèse de certaines molécules phrase cellulaire. La majorité des lantibiotiques de type B agissent en inhibant la synthèse du peptidoglycane, tandis que les lantibiotiques de type A dissipent la force motrice des protons en créant des pores et en interférant avec la synthèse du peptidoglycane.

Cependant, certains créent en plus des pores dans la membrane des cellules cibles. Alors que la mersacidine, un lantibiotique de type B, interagit avec le lipide II au niveau du GlcNAc, la nisine, un lantibiotique de type A, interagit avec le lipide II au niveau du MurNAc. La lacticine 3147 et d'autres anti-lantibiotiques à deux peptides fonctionnent de manière similaire.

En créant des pores dans les membranes des cellules ciblent. La lacticine 3147 (figure 1) possède un large éventail d'actions potentielles. Lorsque le peptide A2 est présent, l'activité du peptide A1 est augmentée. Récemment, il a été proposé que l'acide lactique 3147 A1 agisse en se connectant au lipide II, inhibant la synthèse des peptidoglycanes et permettant à l'acide lactique 3147 A2 de produire un pore dans la membrane de la cellule cible.

ii. Les bactériocines de classe II

Le contact de la bactérie avec la membrane ou avec un récepteur particulier serait le mécanisme d'action de la bactérie de classe Iia. Même si la théorie la plus populaire pour le mécanisme de formation des trous est l'interaction de diverses molécules bactériennes, ceci n'est pas connu.

La majorité des bactériocines de classe IIb ont un spectre d'action qui exclut une large gamme de bactéries Gram+. Ils créent des pores et rendent la membrane perméable à plusieurs petites molécules, dont des cations et des anions monovalents, ce qui dissipe l'une ou les deux composantes de la force de motilité des protons. Les ions qui sont transportés sont uniques aux bactéries.

Le rapport d'activité idéal entre les deux sous-unités est généralement de 1:1, mais il est de 4:1 pour la lactocine 705 (On sait cependant très peu de choses sur la façon dont les deux composés bactériens interagissent entre eux et avec la membrane cellulaire. La "mannose perméase" a récemment démontré que les deux peptides qui composent la lactocine 705 ont des activités très spécifiques. Il a été démontré précédemment qu'il n'y a pas de connexion avec le même récepteur, sauf pour les bactéries de classe IIa. Interactions entre la lactocine 705, la surface de la membrane cellulaire et le déshydraté, ce qui permet à la lactocine 705 β de former des pores.

iii. Les bactériocines de classe III :

Ces bactéries ont un mode d'action totalement différent des bactéries des autres classes. En effet, c'est par l'hydrolyse des liaisons peptidiques des peptidoglycanes des cellules sensorielles que l'entérolysine A, la zoocine A et la milléricine B agissent. Contrairement à l'entérolysine, la zoocine A a un spectre d'activité plus étroit. Le spectre d'activité des bactéries lactiques 149 A et de la milléricine B est large. L'helvéticine J a un mode d'action bactéricide (Dortu et Thonart, 2009).

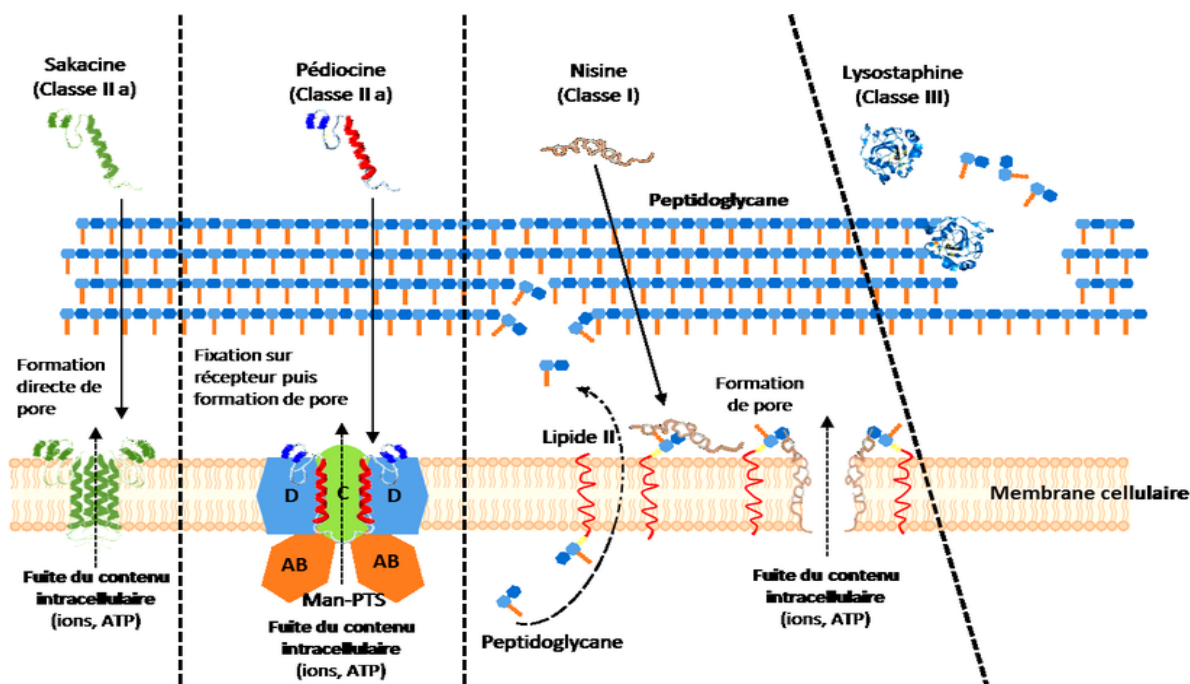


Figure 1.2: Mode d'action des bactériocines de bactéries lactiques (Cotter et al, 2005).

5- La production et le conditionnement des bactériocines

i. La production des bactériocines

La production de bactéries se produit souvent vers la fin de la phase exponentielle et le début de la phase stationnaire de croissance. Elles peuvent alors être absorbées à sa surface ou dégradées par les protéases produites par les bactéries productrices d'acide lactique, ce qui entraîne une diminution de la quantité de bactéries dans la culture. Les principaux facteurs influençant la génération de bactériocines sont la matière première, la température, le pH, la composition ambiante et la technologie de

fermentation utilisée.

Comme l'ont démontré pour la production de sakacine P par *Lactobacillus sakei*, différentes souches ou espèces ayant des capacités de production diverses peuvent produire la même bactérie. Le choix de la souche lors de l'optimisation de la production peut être déterminé par la disponibilité de différentes souches. La génération de bactéries est fortement influencée par les conditions de culture.

En réalité, l'optimisation de la croissance n'entraîne pas nécessairement l'optimisation de la production de vaccins bactériens. De plus, il a été proposé que des conditions de croissance défavorables permettent de stimuler leur production.

Les meilleures températures et les meilleurs niveaux de pH pour la production sont fréquemment inférieurs aux meilleures conditions de croissance. C'est par exemple le cas pour la production de bactériocine par *Lactobacillus curvatus* LTH1174, de sakacine P par *L. sakei* CCUG42687 (Moretro et al., 2000), Pediocin PA-1 par *Pediococcus damnosus* et Amylovorin L471 par *Lactobacillus amylovorus* DC E471 . Les sources et les quantités de dioxyde de carbone et d'azote, en particulier, ont un impact important sur la formation des bactéries. Les bactéries productrices d'acide lactique ont besoin de nombreux nutriments pour se développer, c'est pourquoi des environnements riches en extraits de viande, en lait et en hydrolysats de protéines sont essentiels. Il a déjà été démontré que l'augmentation des quantités d'extraits de viande, de légumes ou de peptones peut accroître la génération de bactéries.

De plus, plusieurs études ont montré que le type de carbone utilisé et sa concentration jouent un rôle important dans l'optimisation de la génération de bactéries. Par rapport à une culture discontinue, la production d'une culture discontinue alimentée peut fréquemment être augmentée par l'ajout de ces nutriments. L'utilisation de la technologie des cellules immobilisées peut permettre d'étendre et de stabiliser la production d'antibiotiques. Les cellules peuvent être immobilisées dans des biofilms ou des feuilles de phosphate de calcium et d'alginate. Cette méthode a déjà été appliquée avec succès à la lacticine 3147 et à la nisine (Dortu et Thonart, 2009).

ii. Le conditionnement des bactériocines

Il est extrêmement difficile de conditionner des bactéries sous une forme purifiée. Le processus long et laborieux de purification des bactéries nécessite l'emploi de

nombreuses techniques, notamment la précipitation des protéines dans le sulfate d'ammonium, diverses combinaisons de chromatographie sur colonne, comme l'échange d'ions ou les interactions hydrophobes, et une étape finale d'électrophorèse chromatographie liquide à haute performance en phase inverse. Ces traitements ne sont pas applicables à l'échelle industrielle.

La stratégie souvent utilisée consiste en une adsorption de la bactériocine sur la cellule productrice suivie d'une centrifugation ou d'une ultrafiltration de la culture et d'une désorption de la bactériocine par abaissement du pH à 2 et augmentation de la concentration en chlorure de sodium.

Les bactériocines semi-purifiées peuvent ensuite être conditionnées sous forme sèche par atomisation ou lyophilisation par exemple. La nisine, seule bactériocine légalement autorisée comme additif alimentaire, est commercialisée sous une forme semi-purifiée (Dortu et Thonart, 2009).

6- La combinaison de différentes bactériocines pour augmenter la durée de vie du produit

L'association de différentes bactériocines permet d'augmenter l'activité et le spectre d'action, notamment en associant différentes classes de bactériocines. Cependant, une attention particulière doit être accordée au développement de la résistance des bactéries cibles. Par exemple, le mécanisme de résistance aux bactériocines de classe IIa semble être le même pour toutes les bactériocines de cette sous-classe. Par conséquent, les bactéries résistantes à une bactériocine de classe IIa sont également résistantes aux autres bactériocines de classe IIa. D'autre part, la « résistance croisée », l'émergence d'une résistance à différentes classes de bactériocines chez les bactéries cibles, peut également être observée (Dortu et Thonart, 2009).

7- La combinaison des bactériocines avec d'autres agents

Les résultats en matière de conservation des aliments sont prometteurs lorsque les bactéries sont associées à d'autres techniques de conservation chimiques ou physiques. Les composés chimiques peuvent être des acides organiques, du nitrite, du

chlorite de sodium, de l'éthanol, des huiles essentielles (l'effet sur les propriétés organoleptiques doit être soigneusement évalué) ou des agents chélateurs comme l'EDTA, le phosphate trisodique et le citrate. Ces produits chimiques chélateurs permettent aux bactéries d'accéder à la membrane interne, qui est le lieu de leur activité, en fixant les ions magnésium des lipopolysaccharides des bactéries Gram-positives.

Les traitements physiques peuvent impliquer des processus thermiques, le stockage sous atmosphère contrôlée, l'utilisation de champs électriques ou l'utilisation de hautes pressions pour éviter la dégradation des bactériocines par les protéases présentes dans le produit à conserver, l'utilisation d'inhibiteurs de protéase ou de protéines dérivées du soja a été suggérée (Dortu et Thonart, 2009).

8- Applications médicales

Les antibiotiques sont des métabolites secondaires de microorganismes qui présentent un large spectre d'activité inhibitrice contre d'autres microorganismes. La pénicilline, premier antibiotique, a été découverte par Alexander Fleming en 1928. Production à grande échelle et sa diffusion pour le contrôle des maladies dans le monde entier. Depuis lors, l'utilisation excessive ou abusive des antibiotiques ont été attribuées à l'émergence d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques mettant en péril l'efficacité des antibiotiques actuellement disponibles et posant par conséquent une menace énorme pour la santé humaine. Par conséquent, la recherche d'agents prophylactiques alternatifs est de la plus haute importance pour surmonter le problème de la résistance microbienne.

Les bactéries lactiques en tant que probiotiques sont des microorganismes non pathogènes, vivants, capables de conférer à l'hôte des effets bénéfiques sur l'hôte lorsqu'ils sont consommés en quantités adéquates.

Les bactériocines produites par les bactéries probiotiques (*Pediococcus*, *Lactobacilli*, *Bifidobacteria* et *Enterococci*) font l'objet de nombreuses recherches pour leurs applications cliniques. Largement recherchées pour leurs applications cliniques dans la prévention et/ou le traitement des infections de la gastro-entérite. Ces bactériocines ont fait l'objet d'une grande attention en tant que solution potentielle aux lacunes des antibactériens, car elles ont un spectre d'action relativement étroit et

spécifique sans compromettre les microforams environnants, et leur nature protéique est sensible aux enzymes digestives du tube digestif. Plus spécifiquement, les bactériocines à spectre étroit ciblent des types spécifiques de bactéries, comme les bactéries Gram-négatives ou Gram-positives. Bactéries Gram-positives, par exemple, la nisine a un spectre étroit inhibant uniquement les bactéries à Gram positif, y compris *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, etc. La nisine n'inhibe généralement pas les bactéries gram-négatives, les levures ou les moisissures.

Le site spectre d'activité de la nisine peut être étendu pour inclure les bactéries gram-négatives lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec d'autres agents antimicrobiens. En fait, les bactériocines lorsqu'elles sont utilisées seules ou en association avec d'autres agents antimicrobiens, se sont révélées efficaces pour inhiber les pathogènes nosocomiaux ou résistants aux antibiotiques, tels que le méthylmercure, pathogènes résistants aux antibiotiques tels que le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) et les entérocoques résistants à la vancomycine (VRE) (Yap *et al*, 2022).

9- Production et purification des bactériocines

Les bactériocines issues des BL peuvent être utilisées comme une préparation brute à partir du fermentat de LAB contenant la bactériocine qui peut contenir d'autres composés antibactériens autres que les bactériocines.

Bactériocines pures, qui sont les seules substances antibactériennes présentes dans les préparations purifiées qui sont très actives à une très faible concentration. L'utilisation de bactériocines pures dans la conservation des aliments est limitée par le développement de souches productrices industriellement viables et par le coût de la purification. Egalement le coût de la purification des bactériocines. La production de bactériocines à l'échelle industrielle n'est viable que par l'optimisation des processus de production de bactériocines par des souches productrices à haut rendement ou des souches génétiquement modifiées. Il a été constaté que la production de bactériocines est la plus élevée à la fin de la phase exponentielle et au début de la phase stationnaire, ce qui signifie que les paramètres critiques du processus doivent être optimisé pour chaque souche productrice afin de produire une quantité économique de bactériocines

au niveau industriel.

La production de bactériocines à l'échelle industrielle implique plusieurs étapes, dont les suivantes :

- Le criblage de souches à haut rendement à partir d'un grand nombre de producteurs de bactériocines candidats.
- L'optimisation des composants du milieu et des paramètres physico-chimiques pour une production accrue de bactériocines.
- Purification des bactériocines jusqu'à homogénéité, identification, caractérisation et l'évaluation de la sécurité des bactériocines.

Il y a eu des rapports sur les facteurs d'induction (FI) qui sont bactériocines, qui sont des peptides cationiques de faible poids moléculaire, de 19 à 26 résidus d'acides aminés induisant la production de bactériocines. Deux modèles ont été proposés par Nes et al, sur la régulation de la production de bactériocines par ces facteurs d'induction, l'un est le modèle du quorum sensing qui stipule que le FI est produit et accumulé par les souches productrices à une concentration plus faible pendant la phase de croissance.

Plus tard, l'induction des gènes de la bactériocine se produit lorsque la concentration en IF atteint le niveau seuil d'auto-induction. Ainsi, ce modèle prédit l'induction de la bactériocine en se basant sur la densité cellulaire des cultures.

La plupart des bactériocines sont produites par des bactéries lactiques (LAB) qui sont des organismes fastidieux qui nécessitent souvent des conditions nutritives riches pour leur croissance. Chaque souche a un besoin spécifique de vitamines, d'acides aminés, de minéraux et de sources de carbone pour sa croissance et la production de bactériocines.

La production de bactériocines en utilisant les déchets agro-industriels a été signalée pour réduire le coût de production. Comme les bactériocines sont de nature disparate, une seule méthode de purification pour toutes les catégories de bactériocines est nécessaire méthode de purification pour toutes les catégories de bactériocines n'est pas possible. Puisque les bactériocines sont sécrétées en petites quantités dans un grand volume de bouillon de culture, l'étape initiale de purification est la concentration du surnageant contenant les bactériocines contenant les bactériocines,

suivie par d'autres protocoles de purification utilisant la charge et les propriétés hydrophobes de la classe de bactériocines visée. Précipitation à l'aide de sulfate d'ammonium pour la concentration initiale des bactériocines est la méthode la plus préférée pour toutes les classes de bactériocines, d'autres méthodes comme l'utilisation d'amberlite pour la purification de la bactériocine comme l'utilisation de résines amberlite, l'ultrafiltration et la lyophilisation sont également utilisées.

L'étape suivante utilise les propriétés spécifiques des bactériocines comme leur charge et/ou leur hydrophobie pour les purifier jusqu'à homogénéité; différents schémas comme l'utilisation de la chromatographie d'échange d'ions, chromatographie d'interaction hydrophobe, et chromatographie en phase inverse sont couramment utilisés pour réaliser cette tâche.

L'étape finale de polissage utilise la chromatographie par filtration sur gel suivie d'une RP-HPLC (chromatographie liquide haute performance en phase inverse) pour purifier les bactériocines jusqu'à homogénéité. La protéine purifiée est ensuite analysée par une électrophorèse sur gel natif en déterminant l'activité de la bande formée par la protéine purifiée contre l'ADN de la bactériocine. Formée par la protéine purifiée contre les pathogènes indicateurs. Les bactériocines purifiées sont ensuite caractérisées par le séquençage des protéines et les techniques de spectroscopie de masse.

En outre, de nouvelles stratégies pourrait contribuer à la réduction du coût global de production. La caractérisation des bactériocines purifiées est très importante pour déterminer leur innocuité, élucider les causes de la maladie, et déterminer les effets de la maladie essentielle pour déterminer son innocuité, élucider le mécanisme d'action, sa nouveauté et d'autres informations concernant l'adéquation de la bactériocine.

L'adéquation des bactériocines pour être utilisées dans les matrices alimentaires comme la plage de pH active, l'hydrophobie, les effets d'interaction et les effets de l'environnement l'inactivation par les enzymes présentes dans la matrice alimentaire, etc méthodes in-silico et en les comparant avec la base de données des bactériocines précédemment caractérisées comme BACTIBASE, BAGEL, etc... Les étapes de la caractérisation comprennent l'élucidation de la séquence des acides aminés de la protéine par séquençage et la conception d'amorces spécifiques pour le gène de la bactériocine après optimisation des codons pour le gène particulier. Après l'optimisation des codons pour le genre particulier, et l'amplification et le séquençage

du gène structurel complet de la bactériocine. A partir de là, la séquence complète des acides aminés de la molécule de bactériocine a pu être déchiffrée. Identification et caractérisation de nombreuses nouvelles bactériocines comme la plantaricine ASM1, la lactocycline Q, la lactococcine Q, et d'autres nouvelles bactériocines nouvelles bactériocines ont été caractérisées par cette méthode (Johnson *et al*, 2018).

**CHAPITRE II: LES APPLICATIONS DES
BACTERIOCINES DANS LE DOMAINE
ALIMENTAIRE**

CHAPITRE II. Les applications des bacteriocines dans le domaine alimentaire :

Les bactéries lactiques (LAB) jouent un rôle essentiel dans la majorité des fermentations alimentaires, et une grande variété de souches sont couramment employées comme cultures de démarrage dans la fabrication de produits laitiers, de viande, de légumes et de boulangerie. L'une des contributions les plus importantes de ces micro-organismes est l'allongement de la durée de conservation du produit fermenté par rapport à la durée de conservation des autres produits fermenté et à celle du substrat brut. La croissance des bactéries pathogènes et d'altération dans ces aliments est inhibée par la compétition pour les nutriments et la présence de bactéries de départ, des nutriments et de la présence d'inhibiteurs dérivés du fermenteur, tels que l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines. Les bactériocines sont un groupe hétérogène de protéines antibactériennes dont le spectre d'activité varie, mode d'action, le poids moléculaire, l'origine génétique et les propriétés biochimiques.

Actuellement, les conservateurs chimiques artificiels sont utilisés pour limiter le nombre de micro-organismes capables de se développer dans les aliments, mais la sensibilisation croissante des consommateurs aux risques potentiels pour la santé associés à certaines de ces substances a conduit les chercheurs à examiner la possibilité d'utiliser des protéines bactériennes dans les aliments et les chercheurs à examiner la possibilité d'utiliser les bactériocines produites par les LAB en tant que biopréservateurs.

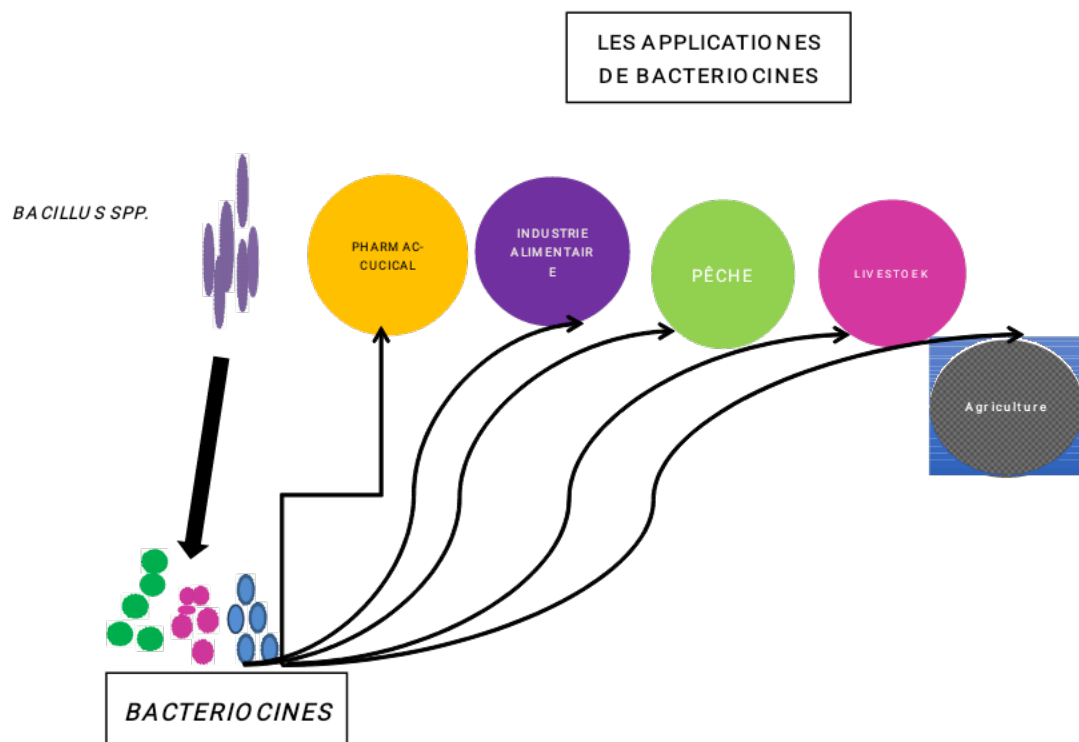


Figure 3: Illustration SHOWING applications of bactériocines in different SECTORS (Basi-Chipalu *et al*, 2022)

1- Applications dans l'industrie alimentaire:

La nisine est un antimicrobien bactéricide produit par *Lactococcus lactis* subsp.lactis, connu pour son efficacité contre les bactéries Gram-positives et largement utilisé pour lutter contre les agents pathogènes d'origine alimentaire, notamment *Listeria monocytogenes* et *Clostridium botulinum*. La nisine agit par la formation d'un pore dans la membrane cellulaire, provoquant la lixiviation de composés cellulaires

Chapitre II: les applications des bactériocines dans le domaine alimentaire

importants, notamment les ions K⁺, les acides aminés et l'ATP, ce qui conduit finalement à la mort de la cellule. Il existe quelques applications potentielles de la nisine dans l'industrie alimentaire, notamment la combinaison de la nisine avec d'autres agents antimicrobiens ou des méthodes physiques de traitement des aliments et l'utilisation de la nisine dans l'emballage antimicrobien des produits alimentaires (Yap *et al*, 2022).

i. Combinaison de la nisine et d'autres agents antimicrobiens

En raison de sa limitation aux seules bactéries Gram-positives, la nisine a été combinée à d'autres agents antimicrobiens afin de maximiser son spectre d'inhibition. Cette technologie permet d'obtenir un effet additif ou synergique entre les deux facteurs de conservation tout en minimisant l'ajout d'agents de conservation synthétisés chimiquement. Par exemple, l'activité de la nisine contre les pathogènes alimentaires à Gram positif est plus élevée en présence d'autres agents antimicrobiens naturels ; le double contrôle antimicrobien des pathogènes alimentaires a également permis l'activité bactéricide de la nisine contre les bactéries à Gram négatif à des concentrations plus faibles que celles des agents antimicrobiens utilisés seuls.

La combinaison des bactériocines nisine et pédiocine AcH est également suggérée depuis longtemps pour vaincre les souches résistantes. La nisine a été associée à des composés organiques tels que le diacétyle pour inhiber la croissance d'*Enterobacter sakazakii* et de *L. monocytogenes*. La combinaison avec une huile essentielle telle que l'extrait de pépins de raisin, l'extrait de thé vert, etc. a également montré un bon effet synergique contre *L. monocytogenes*. En outre, la nisine pourrait être utilisée avec des acides organiques ou d'autres bactériocines dans le cadre d'un double contrôle antimicrobien des agents pathogènes d'origine alimentaire (Yap *et al.*2022).

ii. Combinaison de la nisine et des méthodes de traitement à haute pression

Par ailleurs, le traitement combiné de la nisine et de la haute pression a montré son potentiel non seulement dans la réduction microbienne mais aussi dans l'inactivation des endospores bactériennes. Les spores bactériennes sont plus susceptibles de rester dans les aliments même après la stérilisation en raison de leur grande résistance aux radiations, à la chaleur et aux produits chimiques, ce qui entraîne la détérioration des aliments et est lié aux maladies d'origine alimentaire. L'action de la

Chapitre II: les applications des bacteriocines dans le domaine alimentaire

nisine seule est plus sporostatique que sporicide, en raison de la présence d'une couche externe et d'un cortex protégeant la membrane interne.

Par conséquent, une pression hydrostatique élevée est appliquée pour renforcer l'inactivation des spores par la nisine en déstabilisant la structure de la membrane, ce qui permet la pénétration de la nisine jusqu'à son site d'action, où se produit la formation de pores. En fait, les micrographies électroniques à transmission des spores de *Bacillus subtilis* réalisées par E. Black *et al* et Rao *et al* ont illustré la plus grande sensibilité des spores à la nisine en raison des lésions sublétales de l'enveloppe externe et du cortex provoquées par une pression élevée et une chaleur modérée. Cette technologie est une alternative possible à la pasteurisation du lait par la chaleur. Une pression et une température plus faible, une durée de traitement plus courte et des conservateurs naturels sont nécessaires pour garantir la stérilité commerciale et la qualité du lait et des produits laitiers (Yap *et al*, 2022).

iii. Emballage antimicrobien des produits alimentaires

D'autre part, l'emballage antimicrobien est une technologie multifonctionnelle qui utilise des agents antimicrobiens dans les matériaux d'emballage, dans le but d'améliorer la conservation des aliments en les protégeant des environnements extérieurs et en inhibant la croissance indésirable des bactéries de détérioration en même temps. Bénéficiant d'un statut GRAS (généralement considéré comme sûr), la nisine a été largement immobilisée ou enduite sur des matrices d'emballage sous différentes formes (Yap *et al*, 2022). Les films d'emballage antimicrobiens empêchent la croissance microbienne à la surface des aliments par contact direct de l'emballage avec la surface des aliments, tels que la viande et le fromage. C'est pourquoi, pour être efficace, le film d'emballage antimicrobien doit entrer en contact avec la surface de l'aliment afin que les bactériocines puissent se diffuser à la surface (And et Hoover, 2003).

La migration constante ou le contact direct de la nisine sur l'emballage avec l'aliment entraînerait une extension rapide et irréversible de la phase de latence et un retard de la prolifération des contaminants de surface. Cependant, l'emballage antimicrobien est encore confronté à plusieurs défis. Tout d'abord, la cinétique régissant la libération des bactériocines à partir de la matrice polymère n'est toujours pas claire, ce qui entraîne une libération incontrôlée de la nisine à partir de l'emballage. Cela entraîne un contrôle incohérent des forums bactériens et augmente le risque de

Chapitre II: les applications des bacteriocines dans le domaine alimentaire

développement d'une résistance par les survivants. La libération imprévisible des bactériocines est également attribuée au pH, à la température, à la teneur en eau du substrat et à l'hydrophobicité de l'environnement.

La durée de vie et la stabilité des flms bioactifs sont également une préoccupation dans le développement d'un emballage antimicrobien actif, car la dégradation des flms est attribuée à la libération incontrôlée d'agents antimicrobiens. En bref, le potentiel de l'emballage antimicrobien peut être extrapolé en comprenant mieux la cinétique complexe et les facteurs influençant l'efficacité antimicrobienne dans les systèmes alimentaires réels.

Les progrès de la bio-ingénierie et de la biologie moléculaire permettent de produire des bactériocines recombinantes dotées d'une activité bactéricide plus élevée, ce qui permet d'élargir leur spectre inhibiteur et de surmonter le développement de mutants résistants à la nisine. Il existe plusieurs qualités souhaitables à rechercher dans une bactériocine à utiliser pour la conservation des aliments, à savoir :

- i. La sécurité des consommateurs et l'innocuité pour la microflore intestinale des consommateurs ;
- ii. Un large spectre antibactérien de la bactériocine contre l'organisme de détérioration des aliments ;
- iii. La résistance aux enzymes présentes dans les matrices alimentaires ;
- iv. L'innocuité de la bactériocine pour les consommateurs. Résistance aux enzymes présentes dans les matrices alimentaires.

Stabilité thermique et activité dans une large gamme de pH et de concentrations en sel, pour une inclusion dans une large gamme de systèmes alimentaires. Afin d'établir l'innocuité des bactériocines, divers tests tels que le test de cytotoxicité sur des lignées cellulaires eucaryotes, la capacité à induire l'apoptose, l'inhibition de la croissance, l'altération du métabolisme, l'activité hémolytique, la résistance croisée in vitro et la toxicité aiguë, subchronique et chronique, l'altération de la reproduction et la sensibilisation dans des modèles animaux, doivent être effectués et écartés. Cependant, un certain degré de cytotoxicité a été trouvé dans la plupart des bactériocines, mais il a été constaté que la concentration à laquelle elles sont cytotoxiques est bien plus élevée que la concentration minimale inhibitrice requise pour les microbes altérant les aliments. Les bactériocines produites par les BL sont généralement considérées

Chapitre II: les applications des bactériocines dans le domaine alimentaire

comme sûres, mais il existe des exceptions, comme la cytolysine entérocoque, dont l'activité cytotoxique est largement répandue. La nisine est utilisée dans la biopréservation depuis 1950 (Yap *et al*, 2022).

2- Utilisation stratégique et application des bactériocines dans la conservation des aliments :

Dans le cas de la conservation des aliments par la production in situ de bactériocines, la tâche peut être accomplie en sélectionnant soigneusement les souches productrices qui conviennent au type particulier de matrice alimentaire à conserver. Les souches bactériennes ayant activité la plus élevée dans la matrice alimentaire particulière qui ne confère pas caractéristiques négatives telles qu'un goût désagréable et d'autres propriétés organoleptiques, une interaction avec les composants alimentaires et les autres conservateurs utilisés dans la matrice alimentaire conservateurs utilisés dans la matrice alimentaire doivent être éliminées avant de sélectionner les souches productrices appropriées. Elles doivent être utilisées après des tests préalables dans les conditions de stockage prévues dans l'aliment réel.

Différentes méthodes d'application de la bactériocine dans différents produits alimentaires ; Les bactériocines ont été incorporées dans différents produits alimentaires en suivant différentes techniques telles que:

1. Trempage direct des aliments dans une solution de bactériocine.
2. Utilisation de films plastiques à base de polyéthylène et de films cellulosiques comestibles.
3. Adsorption de la bactériocine sur différentes surfaces telles que comme le polyéthylène, l'éthylène-acétate de vinyle, le polypropylène, le polyanile, le polyester, l'acrylique, le chlorure de polyvinyle, la silice salanisée, etc.
4. L'enveloppe antimicrobienne contenant une préparation de bactériocine contribue également à l'effet de conservation.
5. Les cultures LAB productrices de bactériocines peuvent être utilisées dans les stratégies technologiques visant à réduire les maladies d'origine alimentaire (Gautam et Sharma, 2009).

Chapitre II: les applications des bactériocines dans le domaine alimentaire

Diverses stratégies ont été employées pour l'incorporation de bactériocines dans les matrices alimentaires et pour renforcer les effets antibactériens des bactériocines dans les systèmes alimentaires, comme l'utilisation de bactériocines directement dans le système alimentaire, les traitements par pulvérisation, l'incorporation de bactériocines dans les films d'emballage, l'imprégnation sous vide des bactériocines et l'utilisation de divers traitements physico-chimiques avec les bactériocines comme l'emballage sous atmosphère modifiée, l'emballage sous vide, l'utilisation de diverses technologies d'obstacles avec les bactériocines comme en combinaison avec le traitement thermique, les agents chélateurs, le traitement au dioxyde de carbone, la pression hydrostatique élevée, le champ électrique pulsé antimicrobien comme le sorbate de potassium (0,3%), diacétate de sodium (0,5%), carvacol (0,3 mmol), monolaurine (0,25 mg/l), système lactoperoxydase.

La technologie des haies, qui consiste à utiliser divers traitements physicochimiques en même temps que la bactériocine, retient de plus en plus l'attention, car les haies supplémentaires employées dans la stratégie de conservation ont permis de surmonter les diverses insuffisances du traitement à la bactériocine seule, comme l'amélioration des spectres d'activité contre les pathogènes Gram négatifs en combinaison avec la technologie des haies (Johnson *et al*, 2018).

Les haies, sous la forme d'agents chélateurs tels que l'EDTA, peuvent lier les ions magnésium de la couche de lipopolysaccharide, ce qui perturbe la membrane externe des bactéries gram négatives et facilite l'accès à la nisine.

On constate également que l'efficacité d'inactivation du traitement thermique est améliorée lorsqu'il est associé à la nisine, ce qui réduit le temps d'attente du traitement thermique et améliore la qualité des aliments. L'utilisation de la bactériocine nisine avec le système lactoperoxydase s'est avérée avoir un effet synergique sur l'inhibition de la croissance de *L. monocytogenes* dans le lait écrémé. Il a été démontré que l'utilisation de divers cocktails de bactériocines renforçait l'activité antibactérienne et améliorait les effets de conservation dans les systèmes alimentaires. L'utilisation d'une pression hydrostatique élevée (HP) et d'un champ électrique pulsé (PEF) est une technologie de conservation des aliments non thermique largement acceptée. On a constaté que l'utilisation de bactériocines en synergie avec ces techniques de traitement améliorait l'efficacité de l'inactivation bactérienne. En effet, la bactérie pathogène subit des dommages sublétaux au niveau de la cellule pathogène, ce qui la rend plus perméable aux bactériocines et leur permet d'exercer leur effet (Johnson *et al*, 2018).

Chapitre II: les applications des bactériocines dans le domaine alimentaire

L'introduction de bactériocines sur les films d'emballage pour lutter contre les maladies d'origine alimentaire et la détérioration des aliments a suscité un grand intérêt dans l'industrie alimentaire. Les films antimicrobiens exercent leur effet bénéfique de contrôle des microbes responsables de la détérioration des aliments par deux méthodes, l'une étant le contact direct du matériau d'emballage avec l'aliment et l'autre la libération progressive des bactériocines du film d'emballage sur la surface de l'aliment et la diffusion dans la matrice alimentaire, ce qui est plus avantageux que la pulvérisation et le trempage dans la préparation des bactériocines, car les bactériocines peuvent être inactivées par les composants présents dans la matrice alimentaire ou peuvent finir par se diluer dans la matrice alimentaire.

Il existe trois méthodes de préparation des films d'emballage incorporant des bactériocines :

- (i) L'incorporation de bactériocines directement dans la matrice polymérique du film d'emballage, par exemple l'incorporation de nisine dans des films composés de protéines de soja et de zéine de maïs ou dans des films protéiques biodégradables. Cette méthode présente l'inconvénient que certains composants utilisés dans la fabrication de ces films d'emballage peuvent interférer avec l'efficacité de la bactériocine incorporée.
- (ii) L'enduction ou l'adsorption des bactériocines sur le film d'emballage comme le polyéthylène, l'éthylène-acétate de vinyle, le polyamide, le polyester, le polypropylène, le chlorure de polyvinyle et les films polyacryliques. (Johnson *et al*, 2018)

L'incorporation ou l'immobilisation des bactériocines dans des inserts polymères comme les matrices à base de cellulose, de polyéthylène et de polyamide. Ces inserts sont maintenus en contact avec la matrice alimentaire à conserver. Il a également été constaté que ces matériaux d'insertion conservaient leur bioactivité et leur stabilité jusqu'à 3 mois dans des conditions réfrigérées et non réfrigérées (Scannell *et al*, 2000).

Ainsi, les matériaux d'emballage incorporant des bactériocines promettent d'être des options économiquement viables pour lutter contre la détérioration des aliments à grande échelle et les pertes subies par les industries alimentaires, et constituent également une stratégie alternative de conservation naturelle des aliments (Johnson *et al*, 2018).

3- Facteurs influençant l'activité des bactériocines dans les produits alimentaires

i. Composition de l'aliment

Lors d'une application alimentaire, la composition du produit est un des premiers facteurs pouvant réduire ou totalement dissiper l'activité de la bactériocine par son adsorption sur des composantes du produit, la limitation de sa solubilité et de sa diffusion, sa dégradation par des protéases, l'interaction avec des additifs alimentaires ou des ingrédients et/ou un pH inapproprié (Gálvez *et al*, 2007).

ii. . Traitements thermiques

Les traitements appliqués aux produits constituent un deuxième facteur pouvant limiter l'activité inhibitrice dans un produit alimentaire. En effet, des traitements thermiques trop élevés peuvent dégrader les bactériocines présentes. La température de stockage pourra également réduire l'activité des bactériocines, qui varie en fonction de la température (Dortu et Thonart, 2009).

iii. Flore autochtone

Un autre facteur limitant l'activité des bactériocines est la flore autochtone, principalement sa concentration, la présence de bactéries résistantes, la présence de microorganismes produisant des protéases dégradant la bactériocine et l'état physiologique de cette flore. Un état physiologique stationnaire ou stressé ainsi que la formation de spores peut conduire à une résistance accrue. En outre, dans les produits solides, les bactéries forment des microcolonies ou des biofilms dont la résistance aux bactériocines peut être plus élevée (Schöbitz *et al*, 2003).

D'autre part, il sera également important de considérer l'impact de la bactériocine sur la flore résidente favorable des aliments. Si celle-ci est sensible à la bactériocine, son déséquilibre pourra conduire à la croissance de microorganismes résistants aux bactériocines, pathogènes et/ou altérants avec des conséquences sanitaires et/ou organoleptiques défavorables. A notre connaissance, malheureusement, cet aspect n'a pas encore été étudié en détail (Schöbitz *et al.*, 2003). Ces phénomènes peuvent conduire à (Kouakou *et al*, 2008) :

- Une absence totale d'activité antimicrobienne.

Chapitre II: les applications des bactériocines dans le domaine alimentaire

- Une inhibition partielle des bactéries cibles.
- Une diminution initiale de la concentration des bactéries ciblent sous la limite de détectabilité suivie d'une reprise de croissance au cours du stockage, un phénomène appelé « rebond ».
- Un effet inacceptable sur l'état sanitaire et/ou sur les qualités organoleptiques.

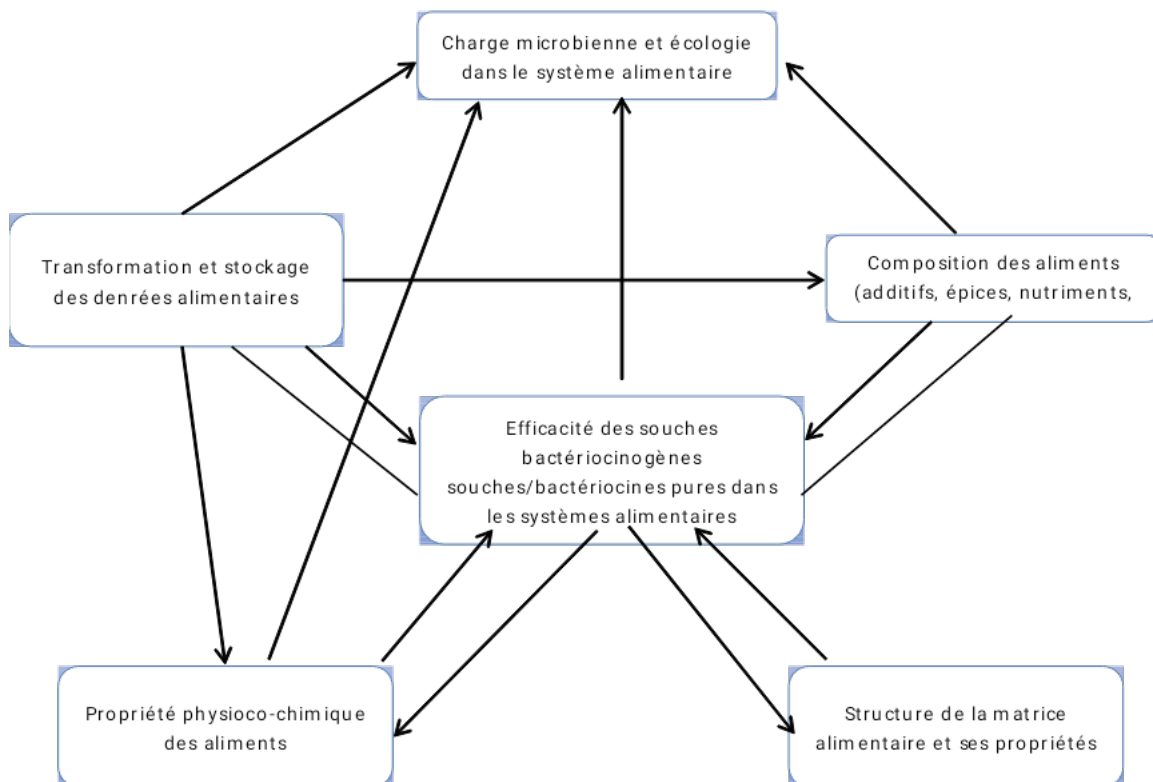


Figure 4: Facteurs influençant les bactériocines produites in situ par des souches bactériocinogènes ou ajoutées aux systèmes alimentaires (Johnson *et al*, 2018).

4- Bactériocines : applications dans la conservation des aliments

a. La biopréservation:

Est le terme général pour les méthodes de conservation des aliments qui utilisent les activités microbiennes pour inhiber la croissance des microbes de détérioration et des microbes pathogènes. La méthode la plus couramment utilisée pour la biopréservation des viandes est l'ajout de bactéries lactiques aux préparations de viande crue. Ces dernières années, les bactéries lactiques productrices de bactériocines ont été de plus en plus utilisées à cette fin et à d'autres fins de conservation de la viande. Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens qui peuvent inhiber la croissance de certaines bactéries pathogènes et d'altération. L'utilisation des bactériocines elles-mêmes en tant qu'additifs est désormais envisagée. Une autre méthode émergente de biopréservation est l'utilisation de bactériophages pour contrôler la croissance de bactéries indésirables dans les aliments (CK Yost ,2014).

b. Application des bactériocines dans la bioconservation des aliments

i. Applications pour le lait et les produits laitiers:

Les cultures protectrices peuvent être utilisées comme cultures de départ ou d'appoint pour l'inhibition des bactéries pathogènes ou d'altération dans les fromages ou d'autres produits laitiers fermentés. Il a été démontré que les bactéries productrices de bactériocine suppriment la croissance de *Listeria monocytogenes* dans les fromages frais et affinés et de *Bacillus cereus* dans le lait et le fromage à pâte dure non gras. Dans les produits laitiers comprennent l'inhibition de la production de gaz par *Clostridium tyrobutyricum*, prévenant ainsi le défaut de soufflage tardif dans les fromages, et l'inactivation des bactéries lactiques adventices non stables (NSLAB) au cours de la maturation du fromage. Les NSLAB provoquent des variations de la saveur du fromage et de la formation de fentes.

Les chercheurs s'intéressent de plus en plus à la capacité des cultures bactériennes à inhiber les levures et les moisissures, qui sont de plus en plus résistantes aux additifs chimiques couramment utilisés tels que l'acide sorbique et l'acide benzoïque. Le potentiel des cultures bactériennes pour prévenir ou retarder l'altération fongique dans les fromages et les produits laitiers fermentés a été démontré

Chapitre II: les applications des bacteriocines dans le domaine alimentaire

dans plusieurs études (Ben Said *et al*, 2019).

Chapitre II: les applications des bacteriocines dans le domaine alimentaire

ii. Applications pour les fruits et légumes

Les maladies d'origine alimentaire sont de plus en plus souvent associées à la consommation de fruits et légumes frais ou peu transformés. Il a été démontré que les bactéries lactiques améliorent la sécurité et prolongent la durée de conservation des fruits et légumes sans affecter la qualité des aliments et leurs propriétés sensorielles. Il a été démontré que *Lactobacillus plantarum* inhibe la croissance de *L. monocytogenes* dans les pommes tranchées et de mâche et d'*E. coli* O157:H7 dans les ananas fraîchement coupés, tandis que *Lactobacillus fermentum* s'est avéré efficace seulement contre *L. monocytogenes*, *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc citreum* se sont également révélés capables d'inhiber les bactéries pathogènes dans les fruits et légumes frais (Ben Said *et al*,2019).

iii. Applications de la viande et des produits carnés

La viande et les produits à base de viande constituent un environnement propice à la prolifération de bactéries pathogènes et d'autres bactéries. La prolifération de bactéries pathogènes et d'altération, même à des températures de réfrigération, ce qui affecte la durée de conservation des produits.

L'activité anti-lymphatique des cultures bioprotectrices a été démontrée dans plusieurs produits carnés. Les souches de *Lactobacillus curvatus* CRL7057 et LBPE84 ont montré qu'elles inhibaient la *Listeria* de manière significative dans le bœuf frais et dans la saucisse fermentée à sec, respectivement. *Lactobacillus sakei*, qui produit de la sakacine P, est capable de se développer sur des produits emballés sous vide; de se développer sur des charcuteries de poulet emballées sous vide et de supprimer ainsi la croissance de *L. monocytogenes*. Dans la viande de bœuf emballée sous vide, les cultures protectrices peuvent également augmenter la durée de conservation des produits ou retarder la détérioration causée par l'emballage soufflé causée par *Clostridium estertheticum* (Ben Said *et al*, 2019)

iv. Applications pour le poisson et les fruits de mer

La principale utilisation proposée pour les producteurs de bactériocines dans le poisson et les produits de la mer est la suppression de *L. monocytogenes*. Plusieurs souches de *Carnobacterium*, *E. faecium* ET05, *Lb. pentosus*, ou *Lb. curvatus* ont été signalées comme inhibant ou limitant la croissance de *Listeria* dans ces produits

Chapitre II: les applications des bacteriocines dans le domaine alimentaire

alimentaires. Une combinaison de souches *Lb. casei* et *Lb. plantarum* augmente l'inhibition de *L. innocua* dans le saumon fumé à froid et emballé sous vide.

Une souche de *Leucostoc piscium* diminue la croissance de *B. thermosphacta* sur des crevettes décortiquées cuites conservées à 8°C⁵⁸. Les bactéries lactiques telles que *Lactobacillus delbrueckii* isolée à partir de fromage ricotta ont montré qu'elles inhibaient *Vibrio parahaemolyticus* dans les huîtres du Pacifique. *Carnobacterium divergens* M35 et sa bactériocine inhibiteurs de *L. monocytogenes* (brevet US 6013-141), ont été approuvés par Santé Canada pour une utilisation dans les produits marins fumés (Ben Said *et al*, 2019).

v. Applications pour le pain et les produits de boulangerie

Il a été démontré qu'au moins trois espèces de *Lactobacillus* (*plantarum*, *reuteri* et *brevis*) sont des inhibiteurs efficaces d'*Aspergillus*, de *Fusarium* et de *Penicillium* dans le pain. Ces espèces, ainsi que *Lb. sakei*, *Lb. spicheri* et *Lb. citreum* ont retardé la croissance des moisissures d'altération sur les produits de boulangerie. L'activité antifongique de ces bactéries lactiques semble associée à leur production d'acides organiques, d'éthanol, de peroxyde d'hydrogène et d'autres composés présents à de faibles concentrations tels que les acides phényllactique, hydroxyphényllactique, azélaïque et caproïque KTU05-8 ou KTU05-8 ou *P. acidilactici* KTU05-7 pulvérisées individuellement sur le pain ont également eu une activité antifongique significative pendant 8 jours de stockage à 15-16°C. (Ben Said *et al*, 2019).

Conclusion

CONCLUSION:

A travers cette synthèse bibliographique, nous avons mis le point sur l'intérêt des bactériocines des bactéries lactiques, leur structure, classification et leur mode d'action. Ainsi, nous avons discuté la possibilité de les utiliser comme alternative pour la bioconservation des aliments. Depuis de nombreuses années, les consommateurs demandent des aliments conservés sans additifs chimiques. L'utilisation des inhibiteurs antimicrobiens des BL au lieu de conservateurs chimiques permettrait à l'industrie alimentaire de répondre à cette demande. Toutefois, l'introduction de la biopréservation des aliments à grande échelle nécessite une évaluation minutieuse de la sécurité et une analyse des risques dans le cadre d'une procédure officielle de notification ou d'enregistrement.

Les bactériocines sont des moyens naturels bien acceptés d'inhibition microbienne sélective. En outre, la demande croissante de traitement minimal des aliments offre une opportunité pour leur application à grande échelle. Cependant, bien que de nombreuses bactériocines, telles que la lacticine 3147, la pédiocine PA-1 et l'entéroccine AS-48, aient démontré qu'elles présentaient un large spectre d'applications alimentaires, en raison de restrictions légales, la nisine reste la seule bactériocine autorisée comme biopréservateur dans les industries alimentaires d'environ 50 pays.

La poursuite de l'étude des propriétés physiques et chimiques, du mode d'action et des relations structure-fonction des bactériocines est nécessaire si l'on veut exploiter leur potentiel dans la conservation des aliments. Ainsi que des recherches plus poussées sur les réactions synergiques de ces composés et d'autres conservateurs naturels, en combinaison avec des technologies avancées, pourraient permettre de remplacer les conservateurs chimiques ou de réaliser des traitements moins sévères, tout en maintenant une sécurité et une qualité microbiologiques adéquates dans les aliments.

A la lumière de cette étude et l'analyse des données portant sur l'intérêt des bactériocines, nous proposons de :

- Financer davantage des recherches qui aideraient à se concentrer sur l'ingénierie des microorganismes pour une production antimicrobienne améliorée sans négliger les préoccupations de sécurité.
- Approfondir l'étude de ces bactériocines et permettre leur utilisation à grande échelle

dans la conservation biologique des aliments et leur homologation en complément de la nisine.

- Etudier le comportement vis-à-vis des traitements de conservation, la congélation et la lyophilisation.
- Tester la résistance des bactéries productrices et/ou les bactériocines vis-à-vis les enzymes extracellulaires présentes dans la matrice alimentaire, qui causent leur dégradation ou inhibent leur production.
- Approfondir l'étude sur des mélanges de protéines de bactériocines pour fabriquer des cocktails de médicaments destinés à des applications biomédicales afin de prévenir la propagation d'agents pathogènes d'intérêt.
- Vérifier qu'il n'y a pas de toxicité de ces bactériocines à long terme.

Finalement, les BL et leurs métabolites sont des candidats prometteurs en tant que préservateurs naturels alternatifs, qui non seulement réduisent l'altération des aliments et assurent la santé du consommateur, mais préservent également les ressources économiques et environnementales.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUE**

Références bibliographique:

- And, H. C., & Hoover, D. G. (2003). Bactériocines and their food applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2(3), 82-100.
- Barbosa, A. A. T., Mantovani, H. C., & Jain, S. (2017). Bactériocines from lactic acid bacteria and their potential in the preservation of fruit products. *Critical reviews in biotechnology*, 37(7), 852-864.
- Basi-Chipalu, S., Sthapit, P., & Dhital, S. (2022). A review on characterization, applications and structure-activity relationships of *Bacillus* species-produced bactériocines. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 16(2), 55-62.
- Ben Said, L., Gaudreau, H., Dallaire, L., Tessier, M., & Fliss, I. (2019). Bioprotective culture: A new generation of food additives for the preservation of food quality and safety. *Industrial biotechnology*, 15(3), 138-147.
- CK Yost;(2014). *Biopreservation*; University of Regina, Regina, SK, Canada; 68–74
- Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Pediocins: the bactériocines of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications: a review. *Nat Rev Microbiol*, 3, 777-88.
- Desriac, F., Defer, D., Bourgougnon, N., Brillet, B., Le Chevalier, P., & Fleury, Y. (2010). Bacteriocin as weapons in the marine animal-associated bacteria warfare: inventory and potential applications as an aquaculture probiotic. *Marine drugs*, 8(4), 1153-1177.
- Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1)
- Galvez, A., Abriouel, H., Lopez, R. L. and Ben Omar, N. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 120 (1-2) : 51-70
- Galvez, A., Lopez, R. L., Abriouel, H., Valdivia, E., & Omar, N. B. (2008). Application of bactériocines in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical reviews in biotechnology*, 28(2), 125-152.
- Gautam, N., & Sharma, N. (2009). Bacteriocin: safest approach to preserve food products. *Indian Journal of Microbiology*, 49, 204-211.
- J Richard. Utilisation de bactériocines pour la production d'aliments plus sûrs : mythe ou réalité ?. *Le Lait*, 1996, 76 (1_2), pp.179-189

Johnson, E. M., Jung, D. Y. G., Jin, D. Y. Y., Jayabalan, D. R., Yang, D. S. H., & Suh, J. W. (2018). Bacteriocines as food preservatives: Challenges and emerging horizons. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(16), 2743-2767.

Karpiński, T. M., & Szkaradkiewicz, A. K. (2013). Characteristic of bacteriocines and their application. *Pol J Microbiol*, 62(3), 223-35.

Kouakou, P., Ghalfi, H., Destain, J., Duboisdauphin, R., Evrard, P., & Thonart, P. (2008). Enhancing the antilisterial effect of *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 in pork meat and cocultures by limiting bacteriocin degradation. *Meat Science*, 80(3), 640-648.

O'Connor, P. M., Kuniyoshi, T. M., Oliveira, R. P., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2020). Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Current opinion in biotechnology*, 61, 160-167.

Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S.N., and Penna, A. L. B. (2012). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews*, 4, 124-140.

Schillinger, U., Geisen, R., & Holzapfel, W. H. (1996). Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocines for the biological preservation of foods. *Trends in Food Science & Technology*, 7(5), 158-164.

Schöbitz, R., Suazo, V., Costa, M., & Ciampi, L. (2003). Effects of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Carnobacterium piscicola* against human and salmon isolates of *Listeria monocytogenes*. *International journal of food microbiology*, 84(2), 237-244.

Yap, P. G., Lai, Z. W., & Tan, J. S. (2022). Bacteriocines from lactic acid bacteria: purification strategies and applications in food and medical industries: a review. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 1-18.