

La biopréservation et les micro-organismes bioprotecteurs

M. ZAGOREC, M.-C. CHAMPOMIER-VERGÈS, S. CHRISTIEANS

Les matières premières constituant les aliments sont inévitablement contaminées par des micro-organismes qui vont, au cours des étapes de transformation et de stockage, pouvoir se développer à des degrés divers dans les aliments. La croissance des micro-organismes peut engendrer – ou non – une modification notable de la matière première : le développement de certaines espèces peut être souhaité, comme celui des ferments dans les produits fermentés, ou au contraire redouté, comme celui des bactéries d'altération qui peuvent agir sur la couleur, la texture, la saveur ou l'odeur de l'aliment. Enfin, pour certaines espèces pathogènes pour le consommateur, un développement, même restreint et qui n'aurait pas d'incidence sur l'aspect ou les qualités organoleptiques des produits, est à proscrire. Garantir une bonne conservation des aliments revient donc, pour une bonne part, à maîtriser le développement microbien en ralentissant ou inhibant la croissance de flores indésirables, au profit d'espèces bénéfiques. L'application de règles d'hygiène strictes va limiter la contamination des aliments et différents procédés de conservation vont limiter le développement microbien.

Ces procédés sont de nature physique :

- la conservation au froid, qui ralentit considérablement, voire stoppe la multiplication cellulaire. Certaines espèces bactériennes sont cependant capables de croître lentement à basse température, comme notamment *Listeria monocytogenes*. La congélation abolit la croissance bactérienne et est même bactéricide pour certaines espèces. Dans ces deux cas, les micro-organismes ne vont pas se développer, mais certains pourront reprendre leur croissance si la température atteint un seuil qui le leur permet (cas de rupture de la chaîne du froid) ;
- la stérilisation par montée de température va généralement être létale pour la flore microbienne, et l'aliment sera ainsi stérile. Une contamination ultérieure du produit peut avoir des conséquences importantes, car tout nouvel organisme contaminant ne rencontrera aucune flore compétitive et pourra ainsi facilement s'implanter ;
- les radiations ionisantes ou les hautes pressions vont détruire la flore bactérienne à des degrés divers, suivant les niveaux utilisés ;
- la dessiccation, comme le séchage employé dans différents produits de salaison, ou conséquence de procédés d'égouttage, va diminuer la disponibilité en eau, ce qui aura pour conséquence de limiter le développement microbien ;

– la fumaison est une action physique qui, dans certains cas, va également engendrer une montée de température qui peut en soi être bactéricide, mais va surtout générer des molécules létales pour plusieurs micro-organismes.

D'autres procédés de conservation sont dus à l'action de molécules et sont donc de nature chimique, comme l'emploi de divers composés à effet bactéricide ou bactériostatique ; ces agents ont donc un rôle de conservateur. Pour exemple, il s'agit :

- d'acides organiques, comme l'acide lactique (additif E270) et l'acide acétique (E260), qui exercent un double rôle antibactérien. Ces acides entraînent une baisse de pH à laquelle sont sensibles de nombreux micro-organismes, et leurs formules salines (lactate de sodium, de potassium, de calcium ; additifs E325, E326 et E327) ont un effet bactériostatique ;
- de sels, tels que le chlorure de sodium et les nitrites et nitrates de sodium et potassium (E249, E250, E251, E252) ;
- du peroxyde d'hydrogène ;
- de bactériocines, tels que des lantibiotiques avec la nisine (E234), seule bactériocine autorisée comme additif alimentaire ;
- d'épices, d'extraits naturels de plantes ou d'huiles essentielles, qui contiennent des substances elles aussi bactéricides ou bactériostatiques, en plus de leurs propriétés gustatives.

Enfin, certains procédés visent à ralentir ou à inhiber le développement bactérien en jouant sur l'atmosphère gazeuse lors de la conservation. L'utilisation de l'emballage sous vide, outre une barrière physique empêchant les contaminations, va priver les micro-organismes d'oxygène et ainsi stopper le développement de bactéries aérobies strictes. Différentes atmosphères protectrices peuvent également être utilisées, soit appauvries en oxygène et qui auront un effet inhibiteur similaire à celui de l'emballage sous vide, soit au contraire enrichies en oxygène et qui auront un effet toxique sur certaines espèces bactériennes, tout en contribuant à la couleur de l'aliment (cas des viandes rouges, par exemple).

Ces différents procédés utilisés de nos jours sont liés à des pratiques maîtrisées et dont on connaît, pour la plupart, les mécanismes d'action contribuant à la bonne conservation des aliments. Ils résultent ou ressemblent souvent à des pratiques ancestrales et empiriques. Le salage, le saumurage, le fumage sont des pratiques très anciennes, qui finalement correspondent à l'ajout ou à la génération de molécules bactéricides ou bactériostatiques, ou qui modifient la disponibilité en eau. Le séchage modifie également la disponibilité en eau. Les conservations dans l'huile privent les micro-organismes d'oxygène. Enfin, la conservation au froid était déjà attestée dans l'antiquité par l'utilisation de glaciers et le stockage de la neige. Si de nos jours, l'utilisation d'épices ou du fumage est surtout associée pour le consommateur au goût des aliments, ces méthodes contribuent grandement à leur salubrité. La fermentation est un autre exemple de procédé de conservation perçu par le consommateur plus pour sa contribution aux qualités organoleptiques des aliments que pour son implication dans la qualité sanitaire des produits. En effet, la fermentation vise à prolonger la durée de vie de certains aliments ou boissons, tout en modifiant les propriétés organoleptiques de la matière initiale (chair transformée en saucisson sec, lait en fromage, choux en choucroute, ou encore jus de raisin en vin). Si l'on ne considère que l'aspect sanitaire de la fermentation, on note alors

qu'initialement réalisée par la flore naturelle présente dans la viande, le lait ou les végétaux, la fermentation conduit à la génération d'acides lactique et/ou acétique, entraînant une baisse de pH qui va mener à la coagulation des protéines et contribuer à modifier la disponibilité de l'eau. Certaines des bactéries fermentaires vont en outre produire du peroxyde d'hydrogène ou des bactériocines. L'ensemble de ces éléments va donc avoir un effet antagoniste sur le développement de nombreux micro-organismes. S'il existe encore de nombreux produits fermentés grâce à la flore naturelle, l'ajout de ferments pour garantir une meilleure reproductibilité de la qualité des produits finis s'est largement développé au cours du xx^e siècle, surtout pour les aliments produits à grande échelle, mais aussi au niveau artisanal.

Au cours des 30 dernières années, une prise en compte de la globalité des effets conjugués des différentes méthodes de conservation a conduit à l'émergence du concept de la technologie de barrière (Leistner, 2000, pour une synthèse). Il s'agit d'appliquer un ensemble de procédés qui vont chacun contribuer à inhiber le développement des flores indésirables. Conjointement, la communauté scientifique a étudié l'impact des différentes composantes intervenant dans l'effet barrière et a pointé l'importance de la flore résidente, c'est-à-dire de la composante biologique naturelle des écosystèmes des produits alimentaires. Ainsi, l'effet bénéfique de certaines souches ou espèces bactériennes a été révélé : une corrélation, entre la présence de ces espèces « positives » et la réduction du développement de flores pathogènes ou d'altération, a été observée. De nombreuses études ont cherché à décrire et comprendre les mécanismes impliqués qui se sont révélés être multiples et, pour certains, relativement complexes. Les résultats les plus aboutis ont principalement concerné les bactériocines : la faculté largement répandue chez les bactéries, notamment les bactéries lactiques, à produire ces composés inhibiteurs, en a fait des modèles d'études. Ainsi, de nombreuses bactériocines et leurs mécanismes de production ont été décrits. Toutefois, d'autres facteurs impliqués dans l'effet barrière des bactéries « positives », plus divers et plus complexes, ont été décrits, mais leur compréhension n'est encore que parcellaire. Parallèlement, l'idée d'utiliser ce processus naturel, afin de maîtriser la conservation des aliments, a vu le jour. Le terme anglais de *biopreservation* a ainsi été décrit par Stiles en 1996 : « Biopreservation refers to extended storage life and enhanced safety of foods using the natural microflora and (or) their antibacterial products » ; c'est-à-dire : la biopréservation (bioconservation) fait référence à une prolongation de la durée de vie et une meilleure qualité sanitaire des aliments par l'utilisation de la microflore naturelle (ou) de ses métabolites antibactériens. Le fait de sélectionner, à partir de cette microflore, des souches efficaces dans le but de les rajouter aux aliments, a conduit à la notion de cultures protectrices. Les termes de cultures protectrices ou bioprotectrices – et de bioprotection – en ont découlé.

La biopréservation est donc l'une des composantes de la technologie de barrière. Son but est d'utiliser une flore « positive » sans danger pour le consommateur et sans incidence sur les qualités sensorielles des produits, afin d'en améliorer la qualité sanitaire. L'extrême diversité des aliments (d'origine animale, végétale, etc.) et de leurs procédés de fabrication engendre un grand nombre de déclinaisons possibles de l'utilisation de flores protectrices. En effet, la nature des substrats et des espèces

bactériennes composant les écosystèmes alimentaires est variée et les cibles visées, ainsi que la nature des flores potentiellement positives, vont en dépendre. De plus, les différents procédés de transformation de la matière première et de l'élaboration de l'aliment vont exercer une pression de sélection sur le développement des différentes espèces microbiennes présentes. Enfin, la possibilité de l'addition de cultures protectrices va dépendre de la nature des produits (frais, fermentés, hachés...). On comprend donc que si le concept de biopréservation est bien défini, ses applications sont diverses et doivent être envisagées de manière adaptée à chaque aliment. Par ailleurs, force est de constater qu'en dépit de nombreux travaux scientifiques portant sur les cultures protectrices, il n'existe que très peu d'applications dans le domaine agroalimentaire. C'est pourquoi cet ouvrage recense les principales connaissances disponibles à ce jour, en traitant séparément les différentes filières alimentaires (produits laitiers, carnés, végétaux et produits de la mer) et leurs spécificités. Les différents mécanismes par lesquels les flores protectrices agissent sur la qualité sanitaire des aliments sont également recensés, ainsi que les critères requis pour la sélection de cultures protectrices. Ce recensement, que nous espérons exhaustif, et cette approche permettront au lecteur de mesurer l'étendue des connaissances dans ce domaine et de constater que le degré de développement atteint varie selon les filières et les types de produits.

L'un des objectifs de cet ouvrage, et du RMT Florepro dont il est issu, est de comprendre les raisons de la difficulté à mettre en œuvre l'utilisation de cultures protectrices pour la biopréservation des aliments de différentes filières, et ainsi d'identifier les thèmes de recherches nécessaires à la mise en application des cultures protectrices.

L'analyse de la bibliographie référencée dans cet ouvrage donne des pistes intéressantes. Une grande majorité des études que nous avons recensées, quel que soit l'aliment concerné, traite de l'utilisation des cultures protectrices pour lutter contre des flores pathogènes, beaucoup moins d'articles étant consacrés à la lutte contre les flores d'altération. Parmi les flores pathogènes ciblées, *Listeria monocytogenes* a été la plus étudiée, suivie d'*Escherichia coli*, puis des salmonelles et des staphylocoques (*Staphylococcus aureus* essentiellement). En comparaison, assez peu d'articles traitent d'autres pathogènes, tels que *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Yersinia* ou *Campylobacter*. Il n'existe donc pas de lien très clair entre la masse de données scientifiques pour utiliser une flore protectrice contre un pathogène et le nombre de cas de toxi-infections qu'il cause, mais plutôt avec la gravité des cas engendrés. Il existe, en revanche, un lien temporel entre l'émergence des études scientifiques et la détection d'épidémies. En effet, de nombreuses études ont été consacrées à *L. monocytogenes* à la suite d'épidémies recensées dans les années 1990. Cependant, l'importance de ces études perdure encore, alors que le nombre de cas de listérioses a, depuis, grandement diminué. De même, on observe un intérêt grandissant pour *E. coli*, suite à l'émergence de ce pathogène dans les produits carnés, puis dans d'autres filières. En revanche, les salmonelles, bien que responsables d'un plus grand nombre de cas, ont fait l'objet de moins d'études. Le cas des *Campylobacter* est intéressant : en effet, considéré depuis peu comme l'agent pathogène le plus fréquemment responsable de zoonoses en Europe, les études de biopréservation ciblant *Campylobacter* sont encore peu nombreuses, et moins fréquentes que celles

portant sur la virulence de la bactérie. Ceci traduit certainement le décalage existant entre le lancement d'études visant à lutter contre un pathogène et la détection de son émergence, alors qu'au contraire on remarque une persistance à étudier un pathogène alors que des pistes aptes à diminuer son impact ont été identifiées. De même, on n'observe pas de corrélation nette entre l'énergie mise dans les recherches (nombre d'articles, types de recherches) et les règles sanitaires mises en place (incidence avérée et tolérée). Une meilleure connexion entre la mise en évidence d'un problème sanitaire, les obligations légales le concernant et l'approche scientifique destinée à contribuer à le juguler serait certainement souhaitable.

Le faible nombre d'études s'intéressant à la lutte contre les flores d'altération est également à noter. Alors que les pertes économiques causées par le retrait de produits altérés sont lourdes, peu d'efforts ont été consacrés à la lutte contre l'altération en vue d'une meilleure conservation des aliments, et éventuellement l'augmentation de leur durée de vie microbiologique par le biais de la biopréservation. La sensibilisation récente au développement durable, incluant la lutte contre les pertes pour améliorer la durabilité de l'alimentation, est peut-être l'explication d'un attrait récent des cultures protectrices vis-à-vis de l'altération microbienne des aliments. De plus, la lutte efficace contre les flores d'altération par le biais de cultures protectrices pourrait être plus facile à atteindre dans la mesure où, dans bien des cas, une simple diminution du seuil de la population altérante, sans forcément atteindre un niveau zéro, devrait contribuer à améliorer ou à garantir la qualité des aliments, du moins jusqu'à leur date limite de consommation (DLC).

Un fait marquant de l'analyse bibliographique est l'observation que les recherches menées sur l'utilisation de la biopréservation concernent toutes les filières, avec des avancées plus ou moins similaires pour chacune d'entre elles. Par exemple, il n'y a finalement pas plus de développement de cultures protectrices dans la filière des produits laitiers fermentés, qui a bénéficié de nombreuses études de microbiologie fondamentale et appliquée depuis plusieurs décennies, que dans la filière des produits de la mer, pourtant bien plus diverse et dont les études de microbiologie sont réalisées par une communauté de chercheurs moins vaste. De même, les études concernent aussi bien des produits fermentés que des aliments frais ou plus ou moins transformés. Ceci tend à montrer que la communauté scientifique s'est mobilisée sur tous les fronts.

On peut cependant regretter la quasi inexistence de recherches menées sur les écosystèmes microbiens dans leur ensemble. La grande majorité des études ne cible qu'une espèce bactérienne (voire une souche). Or, la biopréservation devrait être considérée de manière globale : en effet, il est nécessaire d'estimer si la lutte efficace contre une flore microbienne ciblée ne contribue pas à en favoriser une autre, tout aussi néfaste. Les méthodes en « -omique » (génomique, protéomique, transcriptomique) ont tout d'abord bénéficié aux produits laitiers, en raison d'une forte communauté de chercheurs dans ce domaine. Ensuite, pour toutes les autres filières (produits carnés, de la mer, végétaux), ces approches ont également été mises en place, ce qui explique certainement la mention – faite plus haut – de l'essor des recherches en microbiologie dans toutes les filières, sans retard apparent de l'une ou de l'autre. Le développement des nouvelles technologies de séquençage en masse permet depuis plusieurs années l'étude d'écosystèmes microbiens complexes. Mais

pour l'instant, ce sont surtout les scientifiques s'intéressant aux microbiotes humains (tractus digestif) ou environnementaux (sols) qui se sont emparés de ces méthodes. Il serait souhaitable que les industries alimentaires bénéficient également de ces technologies, en particulier pour l'étude de la biopréservation.

► Références bibliographiques

LEISTNER L., 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *Int. J. Food Microbiol.*, 55, 181-186.

STILES M.E., 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 331-345.