



Société Française
de Microbiologie

MICROBES
15^e congrès national
de la SFM ●●●●●

Du
30 septembre
au 2 octobre
2019

Cité des sciences et de l'industrie, Paris 19^{ème} ●●●

Déclaration de conflit d'intérêt

Pour cette présentation, je déclare n'avoir aucun
conflit d'intérêt.



Cultures antifongiques applicables comme ferments de bioprotection dans les produits laitiers : sélection, évaluation à l'échelle pilote et identification de composés supports de l'activité

Marcia Leyva Salas

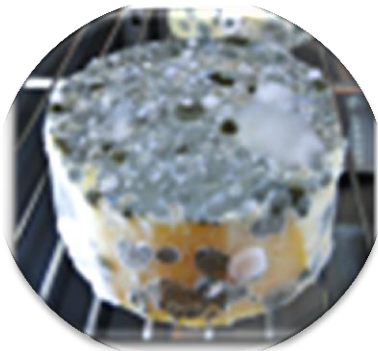
*Université de Brest, EA 3882 Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne,
ESIAB, Technopôle Brest-Iroise, Plouzané, France,*

UMR1253 Science et Technologie du Lait et de l'OEuf, INRA, Agrocampus Ouest, Rennes, France

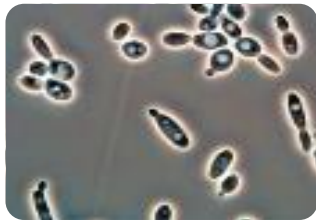
Impact des contaminations fongiques dans les produits laitiers



Yaourt



Fromages



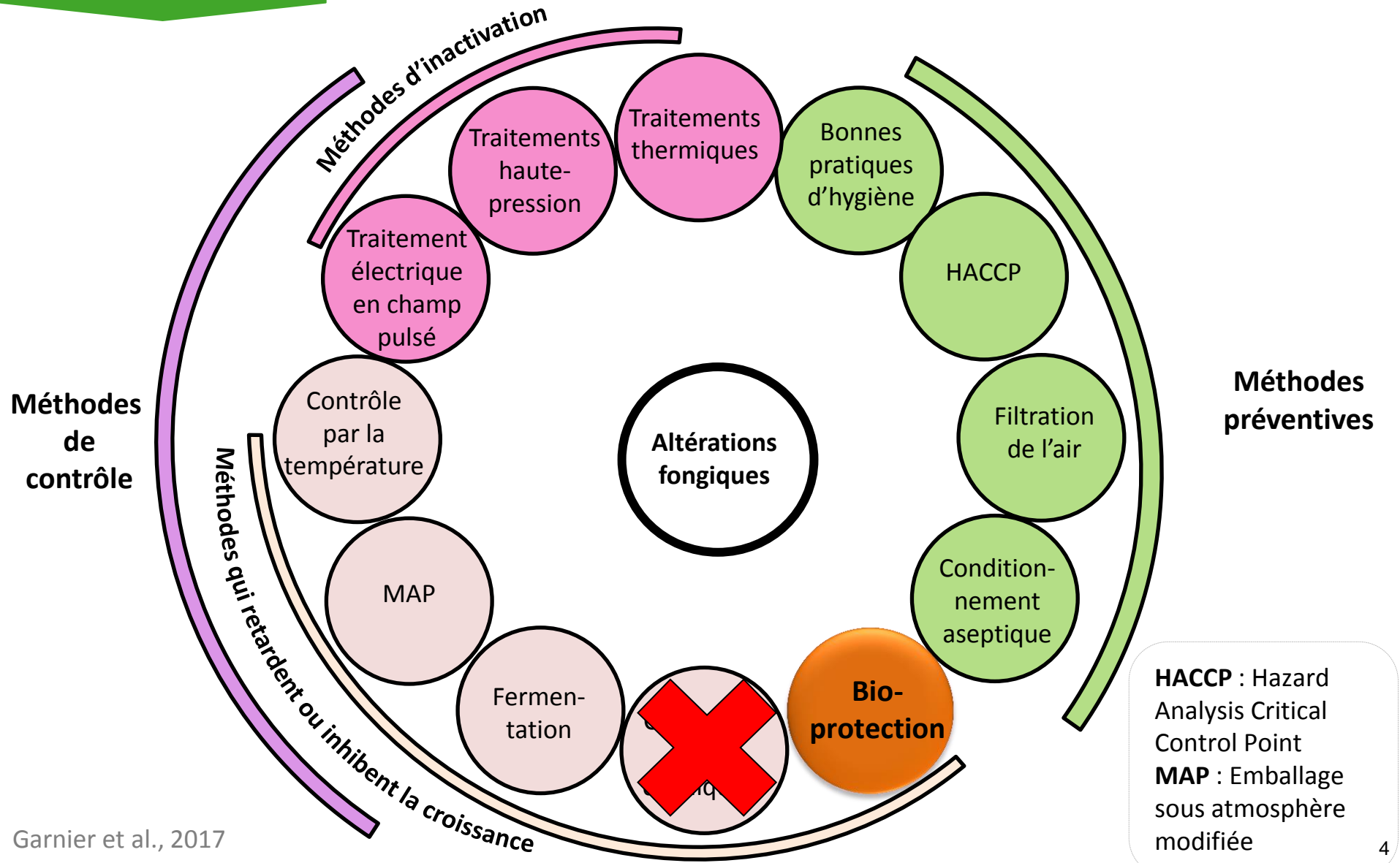
Levures



Champignons filamenteux

Altération des produits

Pertes économiques / gaspillage alimentaire



HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point
MAP : Emballage sous atmosphère modifiée

Bioprotection : Réponse à la demande sociétale

« *Etendre la durée de vie et améliorer la qualité sanitaire des aliments par l'utilisation des microorganismes et/ou de leur métabolites antimicrobiens* »

Stiles, 1996

Souches en tant que **ferments additionnels**

Fermentats

Métabolites purifiés

La bioprotection répond à la demande sociétale pour des aliments sans conservateurs chimiques et moins transformés

Objectif

Développer des cultures bioprotectrices à activité antifongique applicables dans les produits laitiers comme ferments additionnels



Approche de sélection des cultures bioprotectrices du **criblage de l'activité antifongique** dans des modèles laitiers (*in vitro*) Jusqu'à l'**application à échelle pilote** dans des produits laitiers réels (*in situ*)

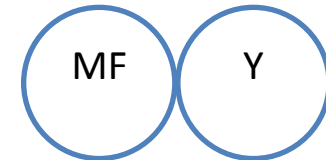


Criblage de l'activité antifongique

In vitro

Recherche de souches antifongiques en tant que ferments additionnels

Quel milieu de criblage ?



MF : Modèle fromage -Rétentat d'ultrafiltration standardisé avec présure et ferment acidifiant
Y : Yaourt

Méthode haut-débit

Quels microorganismes ?

Sélection de souches
Cultures commerciales

Cibles fongiques ?



P. commune *M. racemosus* *G. geotrichum* *Y. lipolytica*

Garnier et al., 2017 International Journal of Food Microbiology 7

Résultats du criblage



Travaux précédents :
Criblage de l'activité d'ingrédients AF
Garnier et al., 2018 Food Microbiology



Selection de souches
1^{er}
criblage



18 *Lactobacillus*
5 *Leuconostoc*
9 *Propionibacterium*

31/32 souches inhibent au moins 1 des cibles fongiques

Effet matrice sur l'activité AF : **MF > Y**

Activité AF est **espèce- et souche-dépendante**

*AF : antifongique

Sélection de 5 souches du genre *Lactobacillus* avec une activité antifongique \geq aux cultures bioprotectrices commerciales

Amélioration de l'activité antifongique

Effet de combinaison des souches actives (gain d'activité ou extension du spectre d'action) ?

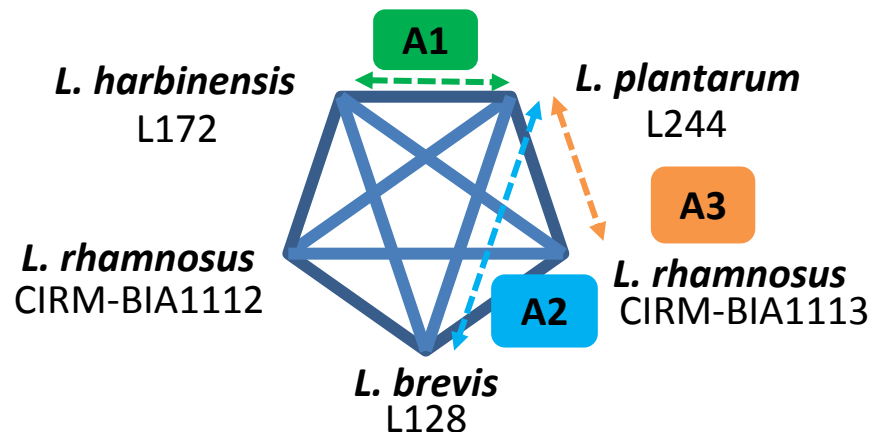
-Combinaison des 5 souches sélectionnées

Selection de combinaisons

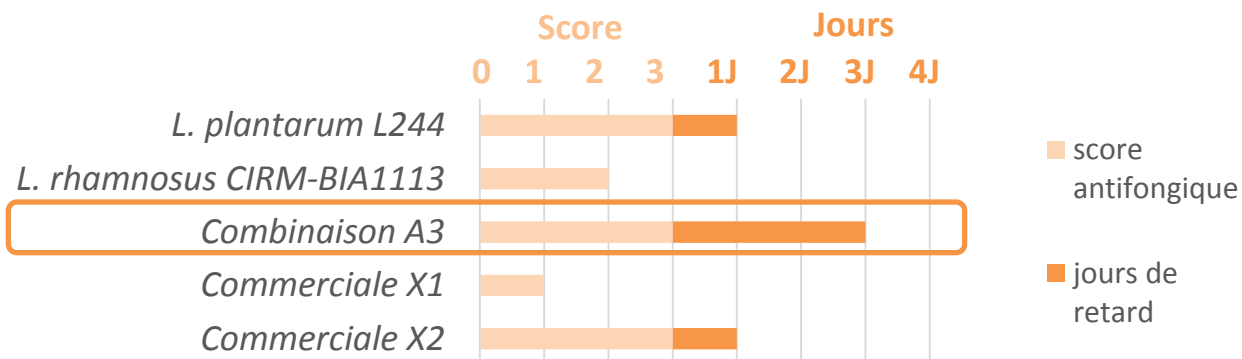
Innocuité?

Antibiorésistance et production d'amines biogènes

Résultats des combinaisons de souches



Exemple en modèle fromage contre *M. racemosus*



Effet d'amélioration de l'activité AF en combinaison

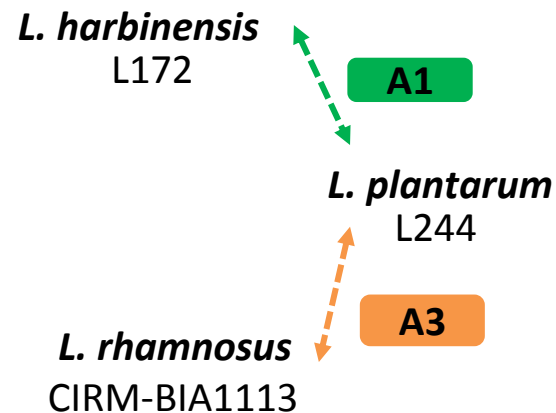
Combinaisons avec une activité antifongique égale ou supérieure aux cultures commerciales

Activité antifongique *In vitro*

~7000 conditions

5 lactobacilles avec une forte activité AF

Innocuité: 2 combinaisons sélectionnées
(A2 éliminée : *L. brevis* L128 **produit des Amines biogènes**)



*AF : antifongique



Validation à l'échelle pilote

Crème fraîche

Crème



fermentation



~80 kg de crème

Fromage à pâte pressée



Cuve de 150 kg de lait

~120 fromages

Challenge-tests

Inoculation des cibles
en surface
50 spores

P. commune

M. racemosus

Inoculation de la cible
en masse
200 cellules/pots

R. mucilaginosa

Crème
fraîche



Stockage
4 semaines
10° C

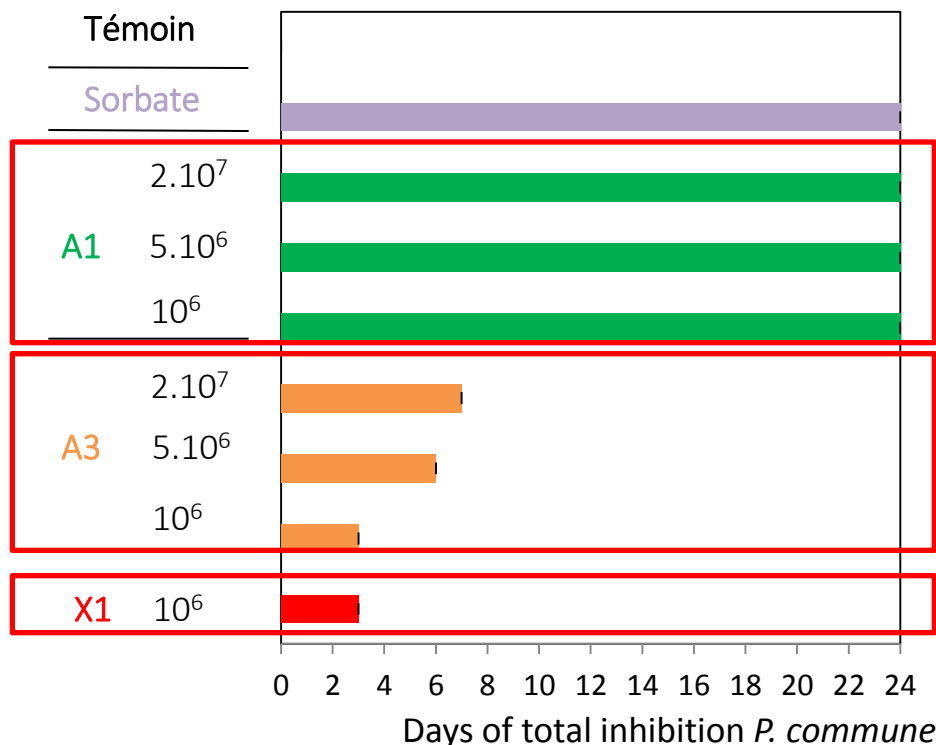
Fromage



Affinage
4 semaines
12° C

« *Pire cas* » du fait du niveau d'inoculum des
cibles et de la température d'incubation

Exemple : résultats du challenge-test contre *P. commune* pour la crème fraîche



Activité antifongique A1 *in situ* > *in vitro*
A1 forte activité(= sorbate) et spectre plus large que A3 et X1
A3 a une activité antifongique proche de X1

Conclusions

Approche efficace pour développer des combinaisons antifongiques avec une forte activité et spectre d'action

A1 et **A3** : large spectre d'action, flexibilité, pas d'impact sur ferments acidifiants

Perspectives

Identifier les composés support de l'activité antifongique dans les produits laitiers
(*Leyva Salas et al 2019, Food Chemistry*)

Etudier le mécanisme d'action des composés identifiés

EMO

Université
de Bretagne
Occidentale



Financement

Industriels



Partenaires académiques



SFM, Paris 2019