

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



**ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE
L'ENVIRONNEMENT (ED-SEV)
ECOLE INTER ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES (EISMV)**

Année : 2013

N° d'ordre : 77

THESE DE DOCTORAT

SPECIALITE : PRODUCTIONS ET BIOTECHNOLOGIES ANIMALES

Présentée par

MODOU DIENG

**UTILISATION DES BACTERIES LACTIQUES DANS L'AMELIORATION
DES CONDITIONS DE CONSERVATION DES PRODUITS DE LA PECHE
ARTISANALE AU SENEGAL : EXEMPLE DE *LACTOCOCCUS LACTIS*
CWBI-B1410.**

Soutenu le **30 /12/ 2013**

JURY

Président :	Cheikh Saad Bouh BOYE	Professeur, FMPOS/UCAD
Rapporteurs :	Papa NDIAYE	Directeur de Recherches, IFAN/ UCAD
	Samba NDAO SYLLA	Professeur, FST/UCAD
	Marc LABAT	Directeur de Recherches, IRD/Marseille
Examineurs :	Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur, EISMV/UCAD
	Falilou MBACKE SAMBE	Maître de Conférences, ESP/UCAD
Directeur :	Ndèye Coumba TOURE-KANE	Professeur, ESP/UCAD

ABREVIATIONS

ABVT	Acide Basique Volatil Total
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AFD	Agence française de développement
AFNOR	Association Française de Normalisation
ANSD	Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie
APRAPAM	Association pour la promotion et la responsabilisation des acteurs de la pêche artisanale de Mbour
ARN	Acide ribonucléique
ASR	Anaérobies Sulfito-Réducteurs
ATP	Adénosine triphosphate
BEA	Gélose biliée, à l'esculine et à l'azide de sodium
BHS	Bouillon hypersalé
BP	Milieu gélosé Baird-Parker
CEE	Communauté économique européenne
CF	Coliformes fécaux
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CNPS	Collectif National des Pêcheurs du Sénégal
COFI	Committee on Fisheries (Comité des pêches de la FAO)
CONIPAS	Conseil national interprofessionnel de la pêche artisanale au Sénégal
CT	Coliformes totaux
CWBI	Centre Wallon de Biologie Industrielle
DMA	Diméthylamine
DOPM	Direction de l'Océanographie et des Pêches Maritimes
DPM	Direction des pêches maritimes
ENSUT	Ecole Nationale Supérieure Universitaire de Technologie
EDTA	Ethylène diamine tétraacétique
EP	Eau peptonée
ESP	Ecole supérieure Polytechnique
FA	Formaldehyde
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
FENAGIE	Fédération Nationale des Groupements d'Intérêt Economique de Pêcheurs
FENAMS	Fédération Nationale des Groupements d'Intérêt Economique de Mareyeurs du Sénégal

FENATRAMS	Fédération Nationale des Femmes Transformatrices
FMAT	Flore mésophile aérobie totale
FMP	dissipation de la force proton motrice
GAIPES	Groupement des Armateurs et Industriels de la Pêche maritime au Sénégal
GIE	Groupement d'intérêt économique
GRAS	General Recognized as Safe
HACCP	(Hazard Analysis critical control point) =Analyse des dangers-points critiques pour leur maîtrise
ISO	(International standard organization) = Organisation Internationale de Normalisation.
Lb.	Lactobacilles
LMAGI	Laboratoire de Microbiologie appliquée et de Génie industriel
MIQ	Méthode d'Indice de Qualité
MRS	Man, Rogasa, and Sharp
ONUAA	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
OTMA	Oxyde triméthylamine
PAS	politiques d'ajustement structurels
PCA	Plate Count Agar
QI	Quality Index
SARM	<i>Staphylococcus. aureus</i> multi-résistantes incluant une résistance à la méthicilline
SCN	surnageant de culture neutralisé
SF	Streptocoques fécaux
TMA	Triméthylamine
UCAD	Université Cheikh Anta Diop de Dakar
UE	Union Européenne
UFC	Unités formant colonie
UNAGIEMS	Union Nationale des GIE de Mareyeurs du Sénégal
UPAMES	Union Patronale des Mareyeurs Exportateurs du Sénégal
VRBL	gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

LISTE DE FIGURES

Figure 1: Les dix premiers pays producteurs de ressources halieutiques en 2008 (en millions de tonnes) (<i>Source : FAO, 2012</i>)	20
Figure 2: Utilisation des produits de la pêche dans le monde, 1962-2010 (<i>Source : FAO, 2012</i>).....	23
Figure 3 : Evolution des débarquements de la pêche maritime au Sénégal (en milliers de tonnes) (<i>Source : DPM / Ministère de l'Economie Maritime 2010</i>).....	24
Figure 4: Evolution en volume et en valeur des débarquements de la pêche artisanale au Sénégal. (DPM, 2012).....	25
Figure 5: Piroguiers de retour de pêche (<i>DPM, 2009</i>)	30
Figure 6: Evolution des exportations en volume et en valeur de 1997 à 2011 (<i>DPM, 2012</i>) ..	32
Figure 7: Schéma représentant le mode d'action de la nisine. (Wiedemann et <i>al.</i> , 2001)	54
Figure 8: Nisaplin TM . (<i>Makhloufi, 2011</i>).....	60
Figure 9:BLIS K12 TM	65
Figure 10: Techniques de dilutions et d'ensemencement	77
Figure 11: Evolution de la flore mésophile aérobique totale dans les filets de sole traités avec les surnageants de culture de <i>Lactococcus lactis</i> CWBI-B1410.	117

LISTE DE TABLEAUX

Tableau I: Barème de cotation de la fraîcheur d'un poisson: Règlement du Conseil (EEC) N° 103/76 OJ N° L20 (28 Janvier 1976), (Larsen <i>et al.</i> , 1992).....	38
Tableau II: Nombre de bactéries trouvées dans les poissons aussitôt après la mort.....	44
Tableau III : Exemple d'utilisation de la nisine dans le monde (Cleveland <i>et al.</i> 2001).	61
Tableau IV : Evaluation de la fraîcheur du poisson selon la méthode de l'union européenne (règlement 33/89)	75
Tableau V: Résultats des analyses de l'eau de mer.....	96

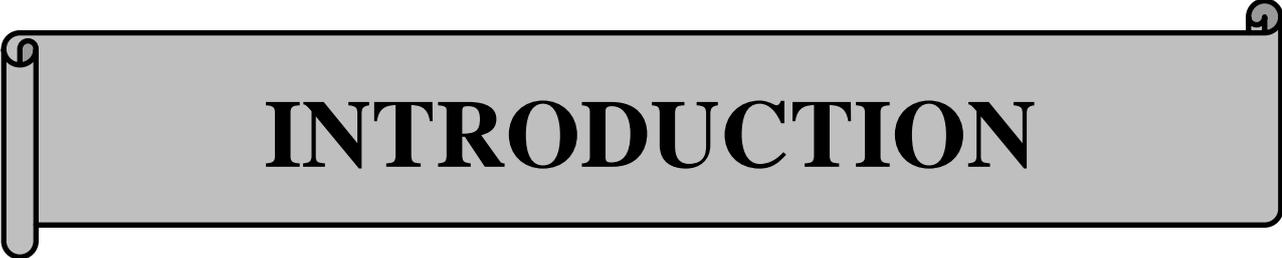
TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	11
PREMIERE PARTIE :	16
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	16
I. Études bibliographiques sur la pêche artisanale et les produits halieutiques.....	18
1.1. Rappels sur la pêche et l'aquaculture	18
1.1.1. Le développement de la pêche de capture.....	18
1.1.2. Les grands pôles de développement, de production et de consommation des produits halieutiques	19
1.1.3. Utilisation et transformation du poisson dans le monde	22
1.2. Historique de la pêche artisanale.....	23
1.3. Place de la pêche artisanale dans la production nationale.....	23
1.4. Facteurs favorables à la pêche artisanale au Sénégal	24
1.5. Augmentation de la productivité	26
1.6. Les organisations socioprofessionnelles	27
1.7. Moyens mis en œuvre par l'Etat	28
1.8. Capture et conservation à bord des pirogues.....	29
1.9. Transformation des produits de la pêche au Sénégal	30
1.9.1. Transformation artisanale.....	31
1.9.2. Transformation industrielle	31
1.10. Qualité du poisson.....	32
1.11. L'exigence qualité dans la pêche artisanale.	34
1.12. Les changements sensoriels influençant la qualité.....	35
1.13. Les altérations autolytiques	39
1.14. Production d'énergie post mortem dans le muscle.....	39
1.15. Altérations autolytiques pendant la conservation du poisson congelé.....	41
1.16. Les changements bactériologiques.....	42
II. Les bactéries lactiques et la bioconservation du poisson et des produits halieutiques. ...	47
2.1. Définition et caractéristiques des bactéries lactiques	47
2.2. Historique.....	47
2.3. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques.....	49
2.3.1. Les acides organiques.....	50
2.3.2. Le peroxyde d'Hydrogène.....	50
2.3.3. Les bactériocines	51
2.4. Caractéristiques des bactériocines de <i>Lactococcus lactis</i>	51
2.4.1. Historique	51

2.4.2. Définition	52
2.5. Classification.....	53
2.5.1. Classe I.....	53
2.5.2. Classe II.....	54
2.5.3. Classe III	54
2.5.4. Classe IV	55
2.6. La production des bactériocines	55
2.7. La nisine	56
2.7.1. Définition	56
2.7.2. Structure et propriétés physico-chimiques	56
2.7.3. Biosynthèse	57
2.7.4. Spectre d'activité et modes d'action	57
2.8. Croissance de <i>Lactococcus lactis</i> sp.....	58
2.9. Domaine d'application des bactéries lactiques.....	58
2.10. Application dans le secteur de l'industrie agro-alimentaire	59
2.11. Propriétés des bactériocines pour une application alimentaire	61
2.12. Application alimentaire.....	61
2.13. Facteurs influençant l'activité des bactériocines dans les produits alimentaires	63
2.14. Les applications médicales des bactériocines	63
2.15. Propriétés de la fixation de la nisine	65
2.16. Mode d'action des bactériocines	66
2.17. Défense des cellules contre leurs propres bactériocines	68
2.18. Toxicité des bactériocines	69
2.19. Limites de la bioconservation par la bactériocine	69
DEUXIEME PARTIE	71
TRAVAUX EXPERIMENTAUX	71
I. Contexte et justificatif des travaux.....	72
II. Matériel et Méthodes.....	73
1. Etude de la qualité générale du poisson de la capture à l'entrée en usine.....	74
1.1. Démarche méthodologique	74
1.1.1. Échantillonnage.....	74
1.1.2. Analyses physico-chimiques	75
1.1.3. Examens microbiologiques	76
1.1.3.1. Techniques utilisées en microbiologie des aliments.....	76
1.1.3.2. Flores recherchées	77
1.1.3.3. Interprétation des résultats.....	81
2. Bioconservation du poisson par <i>Lactococcus lactis</i> CWBI-B1410	81

2.1. Matériels	82
2.1.1. Souche utilisée et préparation du Surnageant de culture.....	82
2.1.2. Milieux de culture	82
2.2. Méthodes	84
2.2.1. Échantillonnage et filetage du poisson.....	84
2.2.2. Traitement et Application des surnageants sur le filet de sole.....	84
2.2.3. Préparation des prises d'essais et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.....	85
TROISIEME PARTIE :	86
PRESENTATION DES RESULTATS ET DISCUSSION GENERALE	86
1. PRESENTATION DES RESULTATS	87
ARTICLE I : La pêche artisanale au Sénégal : qualité de la matière première destinée aux entreprises exportatrices.....	88
ARTICLE II	97
Bioconservation des filets de sole limande frais (<i>syacium guineensis</i>) au Sénégal par utilisation de la souche de <i>lactococcus lactis</i> CWBI-B1410.	97
ARTICLE II : (suite).....	98
ARTICLE III.....	103
Modeling the dynamics of growth of <i>lactococcus lactis</i> CWBI-B1410: effect of changes in glucose and nitrogenized matter in the MRS culture media.	103
2. DISCUSSION GENERALE	115
3. CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATIONS	123
3.1. CONCLUSION GENERALE	123
3.2. RECOMMANDATIONS	127
129	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	130



INTRODUCTION

INTRODUCTION GENERALE

Le commerce des produits alimentaires a connu une expansion spectaculaire dans les années 1980, avec l'accroissement du volume de denrées traversant les frontières nationales et continentales (FAO, 2012). Les exportations des pays en développement ont augmenté. Dans le même temps, plusieurs alertes alimentaires dues à des contaminations bactériennes (*Salmonella* et *Listeria*) et chimiques (mycotoxines, notamment) ont fait de la sécurité sanitaire des aliments une des principales préoccupations du public.

Le développement des entreprises de pêche et des systèmes de distribution des produits alimentaires à l'échelle internationale a conduit à la mise en place dans les pays en développement, des mécanismes d'assurance de la qualité garants du respect des accords bilatéraux, régionaux et multilatéraux sur la pêche.

Le Sénégal, pays côtier situé dans le golfe de Guinée, naturellement favorisé par rapport aux autres pays de la sous-région ouest africaine, possède une façade maritime longue d'environ 718 km de côtes réputées parmi les plus poissonneuses du monde. Elle s'étend de la frontière mauritanienne à la frontière guinéenne. En dépit des nombreuses difficultés auxquelles elle est confrontée, la pêche artisanale occupe incontestablement une place de choix dans les activités halieutiques au Sénégal (DPM, 2009).

Au plan économique et social, le secteur de la pêche joue un rôle important. En 2009, les données globales sont estimées à 443 056 tonnes en quantité et 160,258 milliards de FCFA en valeur (DPM, 2009), faisant du secteur de la pêche la première source de devises devant le tourisme. Avec un peu plus de 90% des débarquements du secteur (ANSD, 2011), le chiffre d'affaires de la pêche artisanale est de 106 milliards de FCFA en 2010 correspondant à une production de 347 600 tonnes de poissons pour une valeur de 88 milliards de FCFA ; 21100 tonnes de mollusques pour une valeur de 13 milliards de FCFA et 1700 tonnes de crustacés pour une valeur de 5 milliards de FCFA.

De nos jours, la pêche continue de jouer un rôle capital dans l'alimentation des populations. La moyenne nationale de consommation de poisson par habitant est estimée à 28,1 kg/an, plaçant ce produit comme la première source de protéines animales pour les populations, loin devant la viande (17,1 kg/an). La part des captures de la pêche artisanale représente en moyenne environ 85% du total des débarquements au Sénégal (DPM, 2009). D'après une étude menée par l'Association pour la promotion et la responsabilisation des acteurs de la pêche artisanale de Mbour au Sénégal, (APRAPAM, 2013), 90% des mises à terre au Sénégal sont assurées par la pêche artisanale et 60% des produits de la pêche destinés à l'exportation sont issus de la pêche artisanale. Elle se caractérise en 2011 par un parc

piroguier composé de 10 455 pirogues en activité dont les débarquements sont estimés à 372 956 tonnes, soit 89% de la production nationale débarquée. La répartition des unités de pêche par zone montre la prédominance de la région côtière de Thiès qui concentre près de 45% de la flottille. Globalement, le nombre de pêcheurs a été estimé à 58 116 individus en 2011 (DPM, 2013).

La pêche est toutefois confrontée ces dernières années à une crise aigüe liée à une dégradation et une surexploitation des ressources halieutiques, à des investissements mal orientés et à une surcapacité de capture et de traitement à terre. La conséquence de cette situation est la baisse des revenus des acteurs du secteur, une chute de l'emploi et une baisse de la contribution économique et financière du secteur.

C'est dans ce contexte que des réformes ont été retenues et partiellement mises en œuvre par le Gouvernement avec l'aide des partenaires techniques et financiers. Leur mise en œuvre est cependant freinée par de nombreuses contraintes, notamment une faiblesse persistante de la régulation de l'accès aux ressources halieutiques, les faiblesses dans le contrôle et la réglementation des activités situées le long de la filière, l'inadaptation du cadre institutionnel et juridique de gestion de la pêche, l'insuffisance en nombre et en qualité du personnel de l'administration chargé d'encadrer le secteur.

Les industriels sénégalais sont souvent confrontés à d'énormes difficultés d'approvisionnement en matière première (poissons). Ces problèmes sont liés principalement à la rareté des espèces souvent sollicitées et aux quantités journalières très fluctuantes liées à un système de collecte sur les différentes plages de débarquement. De plus, ce type d'approvisionnement ne permet pas à l'industriel de pouvoir retrouver l'origine d'un éventuel incident sanitaire. Cette traçabilité est d'autant plus importante que les conditions d'hygiène de la pêche artisanale depuis la capture en passant par la conservation dans la pirogue jusqu'au débarquement, ne respectent pas toujours les normes de qualité requises. La contamination et la détérioration des produits de la pêche par les micro-organismes constituent ainsi un problème majeur à la fois économique et de santé publique.

Dans les produits de la pêche, il y a des bactéries indigènes que l'on trouve de façon naturelle et des bactéries non-indigènes qui ne sont pas naturellement présentes sur les produits de la pêche mais qui sont apportées lors de la manipulation du produit par le personnel et/ou l'environnement de l'entreprise (Graziella, 2010). Dans les bactéries non-indigènes, la recherche des microorganismes aérobies à 30°C peut indiquer une altération du produit.

Ainsi, la complexité des mécanismes d'altération du poisson, est liée à la diversité de la microflore bactérienne dont la composition est essentiellement liée à l'origine des poissons

et à leur environnement. Les premiers changements survenant post mortem dans le poisson sont dus aux enzymes tissulaires et digestives et à l'oxydation des lipides (Leduc, 2011). Selon le même auteur c'est ensuite le développement bactérien qui est le responsable essentiel de la dégradation du poisson. L'altération met en jeu un ensemble de processus microbiologiques, chimiques et physiques. Plusieurs approches permettent d'évaluer le niveau d'altération ou de fraîcheur du poisson. Elles sont d'ordre sensoriel, microbiologique et chimique. De ce fait, les actions nécessaires pour prévenir l'altération et préserver la qualité incluent toutes les étapes nécessaires à une manutention rapide et soignée du poisson et à son maintien à basse température. Le premier défi auquel doit répondre un programme de contrôle de qualité se situe à ce niveau afin de permettre aux acteurs de la pêche artisanale, d'offrir de meilleurs produits à l'exportation.

Les produits congelés constituent l'essentiel des produits exportés (72 %), suivis des produits frais (13 %), des conserves (10%) et des produits transformés (5%) (DPM, 2009). Les entreprises exportatrices agréées doivent répondre à la Réglementation Sanitaire commune précisée par les directives 91/ 493, publiées respectivement le 22 juillet 1991 et le 30 décembre 1995 par la commission de l'Union Européenne (UE). Ces directives fixent les modalités techniques des installations à terre et les règles impératives de fonctionnement et d'hygiène.

Les produits halieutiques exportés dans la zone de l'UE à partir des pays tiers sont soumis aux mêmes conditions de production et de contrôle sanitaire que les produits transformés dans les pays membres de l'UE. C'est le principe de l'équivalence. Ces exigences sont en vigueur au Sénégal et dans tous les pays exportateurs de produits de la pêche vers l'UE.

Dans ces conditions, des analyses sensorielles, chimiques et microbiologiques sont effectuées afin de contrôler les paramètres fixés par les directives 91/493. Les normes établies permettent d'apprécier la conformité ou non d'un produit analysé. De ce fait, tout manquement aux dispositions de cette réglementation expose l'entreprise exportatrice à des sanctions de la part de l'autorité compétente. Ces sanctions peuvent aller de la suspension provisoire de l'agrément à une fermeture définitive de l'établissement, voire une suspension du pays.

Malgré la disponibilité des nombreuses techniques de conservation fiables et adéquates (réfrigération, congélation, stérilisation, séchage, etc.), les professionnels de la pêche continuent de rencontrer d'énormes difficultés. Les industriels et artisans de la pêche s'intéressent de plus en plus aux techniques de bioconservation. Ces techniques conduisent à l'obtention d'aliments présentant un aspect beaucoup plus naturel, de meilleure qualité. Elles

sont notamment basées sur l'activité antimicrobienne naturelle associée à certaines souches bactériennes (bactéries lactiques) agissant comme des microorganismes conservateurs des aliments. Les bactéries lactiques sont connues pour leur capacité à produire lors de leur croissance des composés actifs antimicrobiens à savoir les acides organiques (acide acétique, acide lactique ...) qui acidifient le milieu, des dérivés du métabolisme de l'oxygène (H_2O_2) et des substances naturelles de nature protéique douées d'une activité antagoniste à l'encontre d'un grand nombre de germes d'altération, leur permettant de se développer préférentiellement dans divers écosystèmes sans influence sur les caractères organoleptiques des produits et sur la santé des consommateurs. De nos jours, la substance naturelle protéique la plus utilisée en alimentation et officiellement reconnue est la nisine. Depuis sa considération comme GRAS (General Recognised as Safe) par la FAO et l'OMS (Ross et *al.* 2002), la nisine, demeure jusqu'aujourd'hui la seule bactériocine approuvée par la FDA (Food and Drug Administration) et légalement utilisée comme additif alimentaire. Toutefois son application n'est pas reconnue comme naturelle, si la dose appliquée est supérieure à celle trouvée naturellement dans les produits fermentés par la souche productrice. La nisine a été découverte il y a plus d'un demi-siècle, et a été utilisée depuis plus de 30 ans en tant que bioconservateur d'aliments (Delves-Broughton et *al.*, 1996).

Des travaux de Diop et *al.* en 2008 ont permis de mettre en évidence l'activité inhibitrice de la bactériocine produite par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 sur la flore d'altération du poisson à 10° C. Cependant, les conditions optimales de production de bactériocine par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 n'ont pas été clairement élucidées dans ce contexte. La production de conservateurs biologiques, qui constitue la problématique de notre étude, est souvent limitée par les conditions physico-chimiques mais surtout par la composition du milieu de culture des souches productrices en certains nutriments tels que les acides aminés et les sucres.

Ainsi, pour contribuer à la résolution de la problématique tout en évitant l'utilisation d'agents conservateurs chimiques, des techniques de bioconservation basées sur l'activité antimicrobienne naturelle associée à la souche *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 agissant comme bactérie conservatrice des produits alimentaires, ont été développées. Pour ce faire, il est donc nécessaire d'effectuer des études qui pourront conduire à la détermination d'un milieu de culture plus favorable à la production de ces substances antimicrobiennes.

Enfin, à l'issue de cette étude, il sera proposé un modèle mathématique pour décrire la dynamique de croissance de la souche de *Lactococcus Lactis* CWBI-B1410 en faisant varier la concentration en glucose et en matière azotée dans le milieu MRS.

Dans la première partie de ce travail, nous présenterons la synthèse bibliographique, axée principalement sur la qualité des espèces de poisson de fond capturées par la pêche artisanale et aussi sur les généralités sur les bactéries lactiques, les domaines d'application, les avantages et les limites de la bioconservation. La deuxième partie est consacrée à la présentation des travaux expérimentaux présentés sous forme d'articles scientifiques axés notamment sur l'étude pratique de la qualité générale du poisson de la capture à l'entrée en usine, la bioconservation du poisson par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 et la modélisation de la dynamique de croissance de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 sur le milieu de culture MRS modifié. Enfin, la discussion des différents résultats constituera la troisième partie.

PREMIERE PARTIE :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Dans la première partie de cette synthèse bibliographique, il sera présenté les conditions de la pêche artisanale au Sénégal, les difficultés de conservation rencontrées par les pêcheurs artisanaux et la dégradation chimique et microbiologique du poisson. La deuxième partie de cette revue bibliographique fait le point sur l'état des connaissances en matière de cultures inhibitrices en utilisant les bactéries lactiques comme fil conducteur. Nous examinerons donc successivement les phénomènes d'inhibition engendrés par les principaux métabolites synthétisés par ces bactéries et l'avantage de créer des obstacles multiples par combinaison de différents processus et méthodes de conservation pour inhiber la croissance microbienne dans les filets de poisson.

I. Études bibliographiques sur la pêche artisanale et les produits halieutiques

1.1. Rappels sur la pêche et l'aquaculture

Ces dernières décennies, les pêches mondiales sont devenues un secteur très dynamique de l'industrie alimentaire. Les États côtiers se sont efforcés de tirer parti des nouvelles possibilités en investissant dans des flottilles de pêche et des usines de transformation modernes pour répondre à la demande internationale croissante de poisson et de produits de la pêche. Globalement, la pêche contribue aux moyens de subsistance de centaines de millions de personnes en leur assurant un revenu (FAO, 2010). Elle satisfait des exigences nutritionnelles essentielles de plus d'un milliard de personnes, notamment dans les pays en développement (Ekouala, 2013). Elle répond à des exigences culturelles et récréatives. Selon la FAO (2010), les ressources halieutiques contribuent, depuis les temps immémoriaux, à nourrir les hommes et fournissent au moins 20% des protéines animales consommées sur la planète. La pêche tient une place primordiale dans l'économie et la vie de quelques pays spécialisés comme l'Islande où elle représente les trois quarts des exportations, avec 17 % du PIB et représente 17% des emplois (Bavoux et *al*, 1998). Elle est donc une source importante de revenus, de moyens de subsistance et de création d'emplois pour des centaines de millions de personnes de par le monde, et qui progresse à un rythme plus rapide que dans les autres secteurs de l'agriculture et celui de la croissance démographique (FAO, 2010). Selon toujours la FAO (2010), la production mondiale de poissons s'est élevée à environ 142 millions de tonnes de poissons en 2008 (aquaculture y compris). Sur ce total, 115 millions de tonnes étaient destinés à la consommation humaine, soit une offre apparente par habitant de 17 kg de poissons, ce qui représente un record absolu.

Il apparaît toutefois que de nombreuses ressources halieutiques ne peuvent plus supporter durablement une intensification souvent incontrôlée de leur exploitation.

1.1.1. Le développement de la pêche de capture

Dans le même temps, le commerce mondial des produits de la pêche compte parmi les marchés d'échanges internationaux qui se développent au rythme le plus rapide. Il représente un volume deux fois supérieur au volume global des échanges commerciaux internationaux de thé, café et cacao (Scholz et *al*, 2005). Selon Ekouala (2013), plus de 100 pays approvisionnent aujourd'hui le marché mondial en plus de 800 espèces marchandes de poissons, crustacés, coquillages et poulpes. La palette des produits s'étend du thon en boîte aux huîtres en sauce ou aux sardines destinées à être transformées en aliment pour le bétail en

passant par le filet de saumon sans arêtes, le hareng saur, la morue séchée, les bâtonnets de poisson surgelés, les maquereaux fumés et les langoustes vivantes. L'approvisionnement adéquat de ce marché international nécessite des centaines de milliers d'embarcations de capture et autres moyens (Ekouala, 2013). Selon le rapport de la FAO (2012) sur la pêche dans le monde, les pêches de capture et l'aquaculture ont produit approximativement 148 millions de tonnes de poisson en 2010 dans le monde (pour une valeur totale de 217,5 milliards de dollars EU), dont 128 millions de tonnes environ pour l'alimentation humaine, et les données préliminaires montrent que la production a augmenté en 2011, atteignant 154 millions de tonnes, dont 131 millions de tonnes destinées à l'alimentation.

1.1.2. Les grands pôles de développement, de production et de consommation des produits halieutiques

En se référant aux statistiques de la FAO de la période 1960-1990, on constate que si les apports des pays développés ont presque doublé (passant de 22,8 millions de tonnes), ceux des pays en développement ont été encore plus rapides puisqu'ils ont été multipliés par 3,4 (de 16,3 à 55,8 millions de tonnes) ; il y a donc eu rattrapage et même dépassement, depuis 1985, des pays du Nord par ceux du Sud.

Ainsi, en comptabilisant les seules captures d'espèces marines, le point le plus fort de la production halieutique mondiale se place en Asie, suivi de l'Amérique latine (figure 1). La Chine est de loin le plus grand producteur de poissons au monde. Six autres pays asiatiques (Inde, Thaïlande, Indonésie, Philippines, Corée du Sud et Corée du Nord) ont un apport important dans cette activité. Le Japon est également une nation de premier plan.

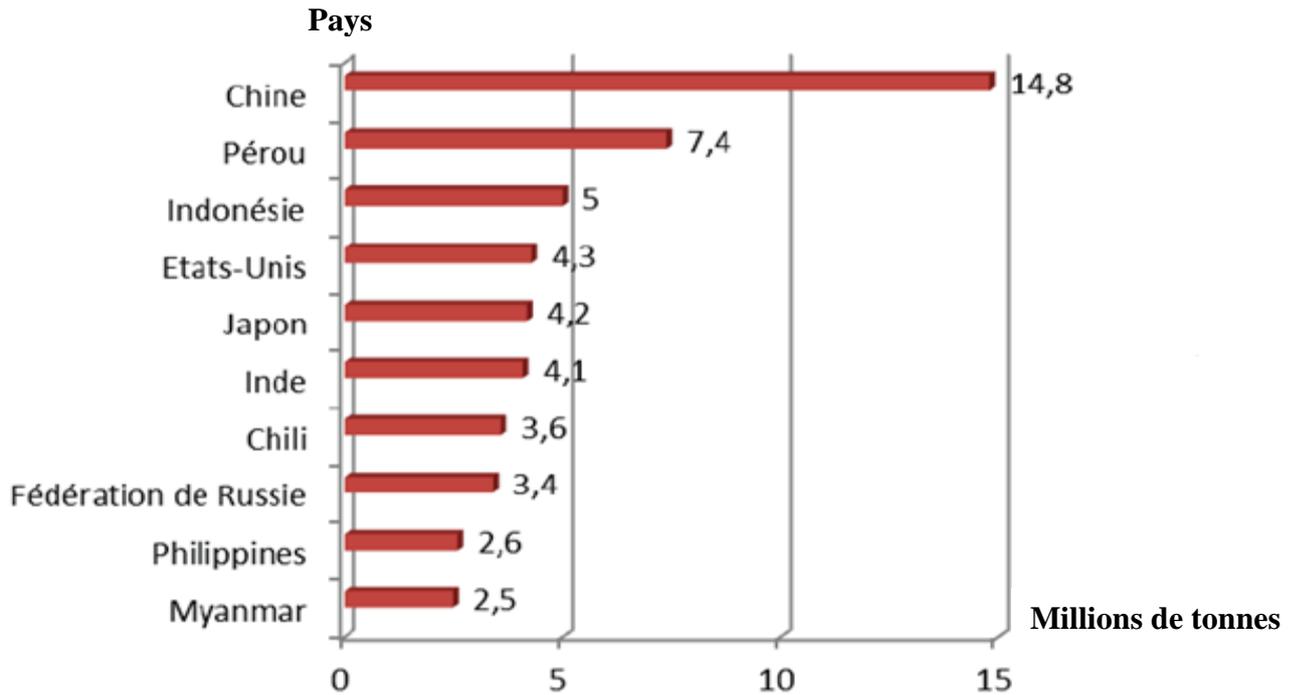


Figure 1: Les dix premiers pays producteurs de ressources halieutiques en 2008 (en millions de tonnes) (Source : FAO, 2012)

Selon ces statistiques de la FAO, aucun pays européen ou africain ne figure parmi les dix premiers.

Deux pays d'Amérique latine font partie du peloton de tête des plus grands pays de pêche: le Pérou et le Chili, respectivement 2^{ème} producteur mondial (7,4 millions de tonnes) et 3^{ème} producteur mondial (3,6 millions de tonnes) de ressources halieutiques en 2008.

L'Europe figure en position moyenne dans les classements mondiaux avec deux pays qui se détachent; la Norvège et l'Islande. Au sein de l'Union européenne (UE), le Danemark et l'Espagne disposent des capacités les plus notoires.

En Afrique, malgré les évolutions et les innovations technologiques, il reste que la pêche demeure massivement traditionnelle dans de nombreux pays avec des pirogues et de petites embarcations à voiles, même si le moteur hors-bord progresse. Ces pays manquent d'infrastructures adéquates, y compris des centres de débarquement respectant les règles d'hygiène, des réseaux d'alimentation en électricité, de l'eau potable, des routes, des chaînes d'approvisionnement suffisamment longues et des services comme la fabrication et la fourniture de glace, les chambres froides et les moyens de transport réfrigérés. Les infrastructures et les installations commerciales sont souvent limitées, ce qui complique encore la commercialisation des biens périssables. Le poisson est donc principalement commercialisé vivant ou à l'état frais ou alors après traitement par séchage, fumage ou

fermentation, en raison des carences évoquées plus haut mais aussi des habitudes solidement ancrées des consommateurs. Quant à sa production, elle est faible au regard de celles d'autres parties du monde, en dépit du nombre important des personnes travaillant dans ce secteur (avec 9,3 % du total mondial des pêcheurs, derrière l'Asie en tête avec 85,5 %, soit 4,17 millions de personnes exerçant l'activité halieutique) (Ekouala, 2013). Toutefois, cette faiblesse des productions africaines ne doit pas laisser accrédi-ter que le rôle de la pêche est mineur. Cette activité peut être suivie à partir des littoraux du Maroc, Mauritanie, Sénégal, Côte-d'Ivoire, Ghana, Afrique du Sud, Namibie, Seychelles, Nord-Ouest de Madagascar.

Pour Chaussade (1997), la pêche profite plus aux pays où l'activité est très moderne et qui disposent déjà d'un niveau de consommation alimentaire élevé (le Japon reste un bon exemple, la pêche est très moderne et les japonais sont de gros consommateurs de produits de la mer, lesquels tiennent une très grande place dans leur l'alimentation).

En effet, si on rapporte la quantité débarquée annuellement par pays au nombre d'habitants (notion de capture/habitant), on s'aperçoit qu'en dépit d'une progression beaucoup plus rapide, la moyenne obtenue par les pays en développement demeure encore très inférieure à celle des pays développés. En outre, même si c'est en Asie que l'on trouve la plus forte production, elle concentre aussi le plus grand nombre de personnes employées dans le secteur primaire. Selon la FAO, (2008), il y avait en Chine 13,3 millions de pêcheurs et d'aquaculteurs, dont 8,5 millions travaillant à plein temps dans ce secteur) et la production annuelle moyenne par personne n'y est que de 2,4 tonnes, alors qu'elle est de près de 24 tonnes en Europe et de plus de 18 tonnes en Amérique du Nord. Ces différences reflètent le degré d'industrialisation des activités halieutiques et le rôle social fondamental des pêches artisanales en Asie et en Afrique.

Ainsi, en dépit de la croissance continue de la consommation annuelle de produits de la pêche par habitant dans les pays en développement (avec un seuil de 5,2 kg en 1961), cette consommation est loin d'atteindre celle des régions plus développées, même si l'écart tend à se réduire. Toutefois, bien que ces niveaux de consommation soient relativement faibles, la contribution du poisson à l'apport total en protéines d'origine animale a été importante en 2007, puisqu'elle s'est établie à 18,3 % pour les pays en développement. Selon Chaussade (2006), l'accroissement des captures auquel on a assisté au cours de ces cinquante dernières années ne s'est pas traduit dans les pays en développement par une amélioration significative de leur niveau de consommation. Plus de 95 % des artisans pêcheurs et d'autres travailleurs apparentés travaillant dans les activités après capture vivent dans des pays en développement. Les communautés qui pratiquent la pêche artisanale sont souvent confrontées à des conditions

de vie et de travail précaires et vulnérables, malgré les avantages économiques, sociaux et nutritionnels que présente la Pêche. La pauvreté reste largement répandue et touche des millions de pêcheurs, notamment en Afrique subsaharienne. Parmi les causes de la pauvreté dans les communautés pratiquant la pêche artisanale, on peut citer l'absence ou la faible qualité des services sanitaires et éducationnels.

1.1.3. Utilisation et transformation du poisson dans le monde

La production halieutique se caractérise par sa diversité, tant en ce qui concerne la variété des espèces exploitées que la forme que peuvent prendre les produits finis d'exploitation. Compte tenu du caractère hautement périssable de ces produits, 90 % du commerce du poisson et des produits halieutiques concernent des produits transformés (FAO (2012)). Les technologies de transformation et de conditionnement ont connu une nette progression ces dernières années. La transformation devient plus intensive et reste plus étroitement liée aux circuits d'approvisionnement mondiaux qui sont révélateurs de la mondialisation croissante de la filière pêche. La transformation est de plus en plus favorisée au niveau mondial, mais la difficulté de respecter les règles sanitaires et hygiéniques imposées et l'augmentation constante des coûts de main d'œuvre pourraient constituer cependant un facteur limitant surtout dans les pays en développement (FAO (2012)).

Après capture, le poisson est transporté dans de bonnes conditions et traité dans des installations performantes de stockage ou de transformation et de conditionnement avant d'être commercialisé. Il faut notamment respecter un certain nombre de règles très précises pour préserver la qualité nutritionnelle et prolonger la durée de vie des produits, limiter l'action des bactéries responsables de leur dégradation et éviter les pertes dues à de mauvaises pratiques de manipulation. Le poisson est généralement distribué sous l'une des formes suivantes: vivant, frais, réfrigéré, congelé, traité thermiquement, fermenté, séché, fumé, salé, mariné, bouilli, frit, lyophilisé, haché, en poudre ou en conserve, voire une combinaison de deux ou trois de ces formes. En 2010, 40,5 % (60,2 millions de tonnes) de la production mondiale de poisson a été commercialisée sous la forme de poisson vivant, frais ou réfrigéré, 45,9 % (68,1 millions de tonnes) sous forme de produits congelés, fumés ou préparés autrement destinés à la consommation humaine directe, et 13,6 % étaient destinés à des usages non alimentaires (FAO, (2012) (Figure 2).

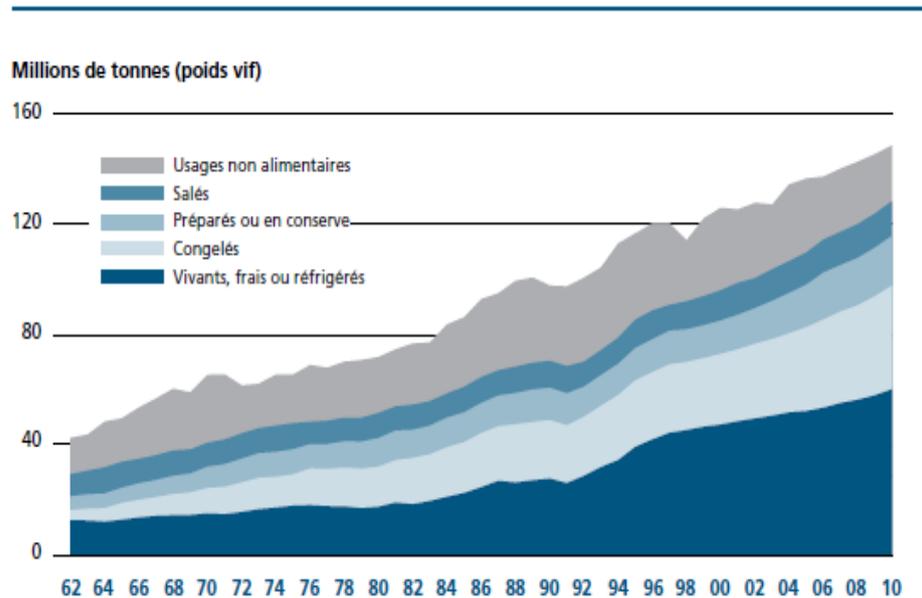


Figure 2: Utilisation des produits de la pêche dans le monde, 1962-2010 (*Source : FAO, 2012*)

1.2. Historique de la pêche artisanale

Au plan scientifique, la pêche artisanale n'a pas toujours été considérée comme objet d'étude à part entière (Chaboud C. 1991). Pour beaucoup de théoriciens des sciences sociales comme Firth (1946), la pêche artisanale a toujours été une activité qui ne présentait pas de spécificité particulière.

De nos jours, une recherche importante se développe autour des ressources aquatiques, aussi bien en milieu marin que continental. Une grande partie de ces travaux, qui peut être rattachée à l'écologie (biologie et écologie des populations, fonctionnement trophique des écosystèmes écologie des peuplements) s'est intéressée à la dynamique propre des ressources dans leur environnement naturel. Les aspects halieutiques ont été très développés pour quelques pêcheries industrielles mais sont restés très peu abordés pour la pêche artisanale, qui rentrait mal dans le cadre des problématiques de recherche courantes (Chaboud C. 1991).

1.3. Place de la pêche artisanale dans la production nationale

Le secteur de la pêche maritime est caractérisé par une pêche exercée par une flottille dite artisanale presque exclusivement constituée de pirogues et une pêche industrielle exercée par une flottille nationale et étrangère constituée de chalutiers glacières et congélateurs, de sardiniers et de thoniers DPM (2012).

La pêche artisanale occupe une place très importante dans la filière en terme de volumes capturés et de nombre de pêcheurs présents. Cette activité est très dynamique puisqu' en 1997 déjà, elle représentait 78% des captures du Sénégal (O.E.P.S, 1998). 85% de ces dernières sont des espèces pélagiques (Broutin et *al*, 1996).

En 2011, les débarquements de la pêche artisanale, s'élevaient à 372 956 tonnes contre 370 448 tonnes en 2010, soit une augmentation d'environ 0,68% (DPM, 2012), entraînant ainsi une augmentation de la valeur commerciale de 5,35% (Figure 3). Selon toujours le même rapport, les captures réalisées par la pêche industrielle ont connu une augmentation, passant de 38 981 tonnes à 47 923 tonnes entre 2010 et 2011, soit une hausse de 23% avec une augmentation de la valeur commerciale de 9%. Malgré son importance, les débarquements de la pêche industrielle sont de loin moins importants que ceux de la pêche artisanale.

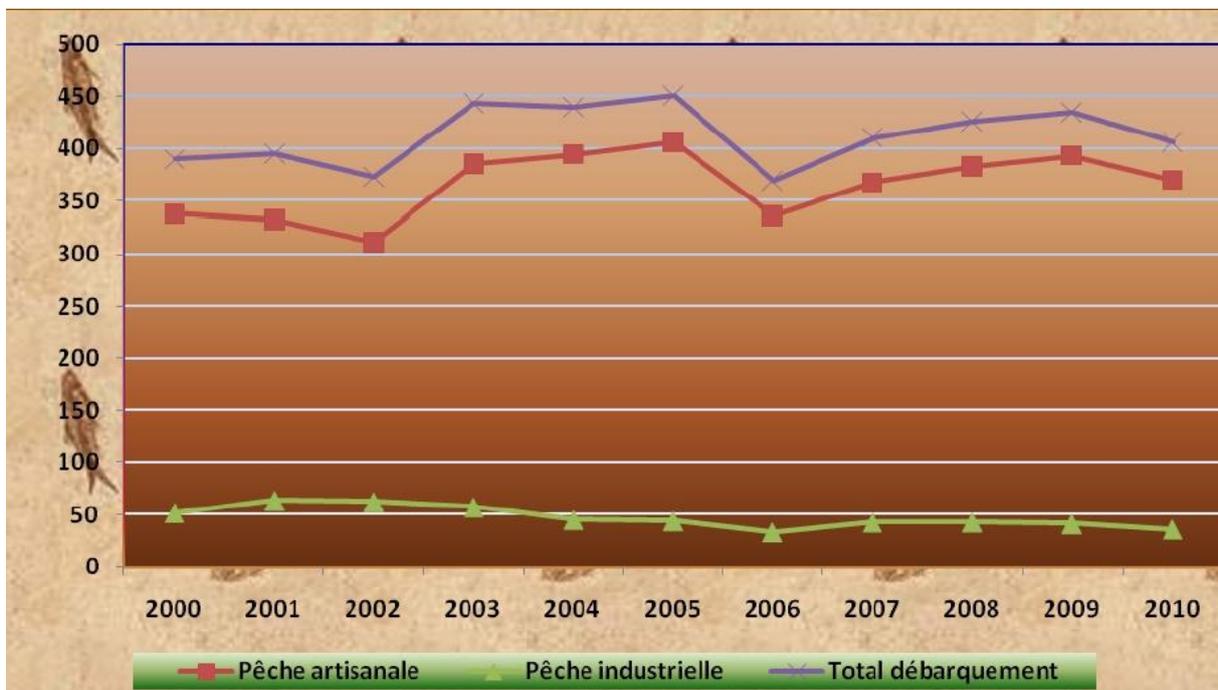


Figure 3 : Evolution des débarquements de la pêche maritime au Sénégal (en milliers de tonnes) (Source : DPM / Ministère de l'Economie Maritime 2010)

1.4. Facteurs favorables à la pêche artisanale au Sénégal

Comme la plupart des pays à vocation maritime, le Sénégal a connu des performances économiques et sociales grâce à la dynamique du secteur de la pêche artisanale. Les débarquements de la pêche artisanale en 2011, s'élèvent à 372 956 tonnes contre 370 448 tonnes en 2010, soit une augmentation d'environ 0,68%. La valeur commerciale a aussi augmenté de 5,35%. Cette augmentation de la valeur commerciale est due à la cherté des

produits (DPM 2011). Ce secteur s'est considérablement développé depuis les années 70 marquées par le déclin de l'agriculture suite à des conditions climatiques défavorables, et par un important soutien public à travers l'adoption d'instruments économiques dans la gestion des pêcheries sénégalaises comme la détaxe sur les engins de pêche, la péréquation sur le carburant des pirogues, l'octroi de crédits pour l'équipement et la modernisation des outils de production.

En effet, le Sénégal dispose d'un plateau continental de 196000 km², d'un littoral de 718 km de côtes réputées parmi les plus poissonneuses du monde. Par ailleurs, le pays recèle un réseau hydrographique dense dont le fleuve Sénégal long de 1700 km, avec cinq principaux affluents, le fleuve Gambie long 1150 km dont 477 km en territoire sénégalais, le fleuve Casamance (350 km) et le fleuve Sine-Saloum (130 Km). A ces cours d'eau s'ajoute plusieurs lacs naturels et artificiels, des marigots et des bassins de rétention. La pêche continue de jouer un rôle capital dans l'alimentation des populations avec une contribution moyenne de près de 70% aux apports nutritionnels en protéines d'origine animale (FAO, 2007).

Les mises à terre de la pêche artisanale ont enregistré une tendance à la hausse de 25% de 2000 à 2007 (figure 4). Cette évolution s'explique cependant par le fait que les captures piroguières débarquées au Sénégal proviennent de plus en plus des zones de pêche des pays voisins (DPM, 2008). De même, la valeur des exportations des produits halieutiques a fortement soutenu l'équilibre de la balance des paiements.

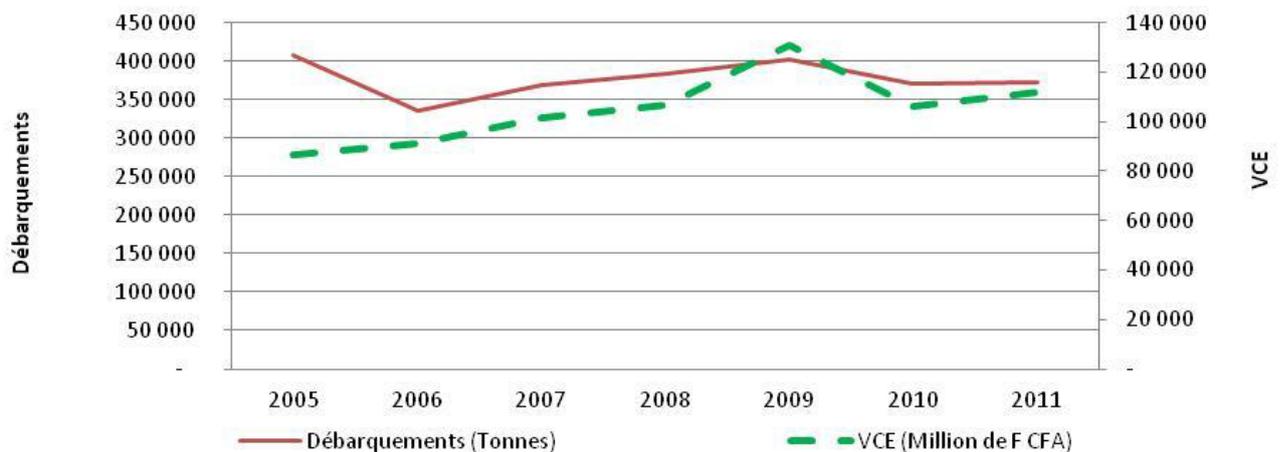


Figure 4: Evolution en volume et en valeur des débarquements de la pêche artisanale au Sénégal. (DPM, 2012)

Cependant, les conditions de réussite dans le secteur de la pêche artisanale au Sénégal sont compromises par les nombreux défis environnementaux, technologiques, économiques, sociaux et politiques. La pêche au Sénégal est caractérisée par une surexploitation des espèces côtières à forte valeur commerciale dans un contexte d'une demande de production mondiale croissante. A cet effet, l'importance accordée à la gouvernance dans le secteur des pêches s'est renforcée ces dernières décennies. Il est de plus en plus reconnu que l'exploitation des stocks de poisson dans les différentes régions du monde dépasse trop souvent le niveau optimal de ces stocks et que le secteur des pêches est confronté à des difficultés socio-économiques. Au Sénégal, il a donc été reconnu qu'il fallait limiter l'exploitation du poisson et mettre ainsi un terme au libre accès aux pêches.

1.5. Augmentation de la productivité

Les autorités sénégalaises ont choisi au lendemain de l'indépendance d'assigner à la pêche artisanale un rôle d'approvisionnement du marché local compte tenu de l'importance des produits d'origine halieutique dans la consommation des populations. Alors que le secteur industriel devait essentiellement procurer des devises. C'est ainsi que l'Etat a opté pour une politique volontariste de développement de la pêche artisanale maritime et d'octroi de licences de pêche à des bateaux étrangers, notamment ceux de l'Union Européenne et de promotion de l'exportation des produits pêchés (DPM, 2009).

Les premières interventions publiques ont visé en priorité l'introduction de changements technologiques dans les différents segments de la pêche artisanale, afin de disposer d'une offre abondante à un prix abordable sur le marché intérieur ; ce qui justifiait l'adoption d'instruments économiques dans la gestion des pêcheries sénégalaises comme la détaxe sur les engins de pêche, la péréquation sur le carburant utilisé par les pirogues, l'octroi de crédits pour l'équipement et la modernisation des outils de production. Les investissements ont été par la suite réorientés vers la commercialisation, en raison de difficultés à valoriser de façon satisfaisante les débarquements croissants de la pêche artisanale, en mettant en place un système public de distribution (FAO, 2008). En 2011, la 29^e session du Comité des pêches de la FAO (COFI) a recommandé qu'un instrument international sur les pêches artisanales soit développé. Cette décision est motivée par le fait que l'importance des pêches artisanales et leur rôle en termes de contribution à la réduction de la pauvreté et à la sécurité alimentaire sont de plus en plus reconnus et par les conseils formulés par plusieurs conférences régionales et internationales.

C'est dans ce contexte que des réformes ont été retenues et partiellement mises en œuvre par le Gouvernement du Sénégal avec l'aide des partenaires techniques et financiers. Leur mise en œuvre est cependant freinée par de nombreuses contraintes, notamment une faiblesse persistante de la régulation de l'accès aux ressources halieutiques, les faiblesses dans le contrôle et la réglementation des activités situées le long de la filière, l'inadaptation du cadre institutionnel et juridique de gestion de la pêche, l'insuffisance en nombre et en qualité du personnel de l'administration chargé d'encadrer le secteur.

1.6. Les organisations socioprofessionnelles

A la faveur d'un contexte géographique exceptionnel, la pêche joue un rôle majeur au Sénégal principalement au niveau de l'absorption du chômage et de la satisfaction des besoins alimentaires des populations. L'importance socio-économique du sous-secteur de la pêche artisanale n'a pas cessé de croître depuis les années 1980. Le développement et l'implication croissante des organisations professionnelles dans la gestion des pêches ont été le fait marquant ces dernières années (Ministère de la pêche, 2013). Selon la même source, les organisations les plus en vue dans le sous-secteur industriel sont le Groupement des Armateurs et Industriels de la Pêche maritime au Sénégal (GAIPES) et l'Union Patronale des Mareyeurs Exportateurs du Sénégal (UPAMES). Dans le sous-secteur artisanal, il s'agit de la Fédération Nationale des Groupements d'Intérêt Economique de Pêcheurs (FENAGIE-PECHE), de la Fédération Nationale des Groupements d'Intérêt Economique de Mareyeurs du Sénégal (FENAMS), du Collectif National des Pêcheurs artisanaux du Sénégal (CNPS), de l'Union Nationale des groupements d'intérêt économiques (GIE) de Mareyeurs du Sénégal (UNAGIEMS), de la Fédération Nationale des Femmes Transformatrices (FENATRAMS). Ces organisations se regroupent au sein du conseil national interprofessionnel de la pêche artisanale au Sénégal (CONIPAS).

Depuis 1985, l'Etat du Sénégal s'est désengagé dans la distribution des matériels de pêche au profit du secteur privé mais il maintenait un système de détaxe sur les moteurs et de péréquation sur le carburant. Le maintien de ces aides publiques se justifiait par le souci de tenir compétitifs les produits de la pêche industrielle et de contenir le prix du poisson à un niveau de prix raisonnable pour les populations sénégalaises. Les politiques d'ajustement structurel (PAS) marquent l'enterrement des coopératives dans le monde rural et la naissance des organisations d'autopromotion des acteurs à la base. La promulgation par l'Etat de la loi de 1984 qui autorise la création du statut de Groupement d'intérêt économique (GIE) fut un

signal fort dans sa volonté de se désengager de son rôle d'encadrement et de favoriser l'initiative privée. La création du Collectif National des Pêcheurs du Sénégal (CNPS) en 1987 qui est la première organisation nationale autonome des pêcheurs artisans du pays traduit la volonté des pêcheurs de mieux défendre leurs intérêts devant l'Etat et la poussée de la pêche industrielle étrangère, identifiée comme étant l'un des principaux responsables de la spoliation des ressources halieutiques au Sénégal.

Ainsi, le CNPS qui dénonçait avec virulence les accords de pêche signés par l'Etat avec les pays tiers et les méthodes de la pêche industrielle qu'il accusait de racler les ressources maritimes du Sénégal devint une organisation gênante pour l'Etat à cause de son caractère syndical et revendicatif. Au début des années 1990 l'Etat s'était immiscé dans l'organisation des acteurs de la pêche artisanale, en favorisant la création d'une autre organisation à vocation économique et non politique et revendicative, la Fédération Nationale des GIE de pêcheurs du Sénégal (FENAGIE) dont le siège est à HANN. Ses principaux objectifs sont la reconnaissance et le renforcement des droits des pêcheurs, la défense des intérêts socioprofessionnels, une meilleure exploitation de la ressource halieutique, la recherche de bailleurs de fonds et le décompte de l'exploitation. Conscient de la volonté manifestée par les acteurs de la pêche pour réorganiser la pêche artisanale, l'Etat du Sénégal avait décidé dans les années 1990 d'aménager les principaux sites de débarquement.

1.7. Moyens mis en œuvre par l'Etat

Conscient des difficultés auxquelles sont confrontés les acteurs de la pêche artisanale, l'Etat du Sénégal a décidé de reconfigurer son rôle pour une bonne gouvernance dans les secteurs clés de l'économie comme la pêche. Cette reconfiguration du rôle de l'Etat passe par la participation de tous les acteurs concernés dans l'élaboration des orientations politiques majeures que doit prendre le secteur de la pêche (AFD, 2010).

Dans son programme d'activités, le Ministère de la Pêche et des Transports maritimes a mis en place un Fonds d'Equipe pour la pêche artisanale et les activités connexes. La création et la mise en place de ce fonds est la concrétisation de l'engagement, plusieurs fois renouvelé, du Gouvernement du Sénégal, en faveur de la promotion de ce sous-secteur, qui occupe une place centrale dans la croissance et la création d'emplois. Une étude sur la création et l'organisation d'un système de financement de la pêche artisanale et des activités connexes a été réalisée. Cette étude a abouti à l'aménagement des quais de débarquement. C'est ainsi que le Ministère de la Pêche et des transports Maritimes a sollicité et obtenu de l'Agence Française de Développement, le financement de la construction de quais de débarquements de

quatre sites: Saint-Louis, Fass-Boy, Kayar et Yoff pour un montant de 2,3 milliards F CFA. Dans le même programme élargi il a été aussi prévu d'autres aménagements à Yène, à Ouakam et à Mbour (AFD, 2010).

Une cellule d'appui a été mise en place au sein du Ministère de la Pêche et des transports maritimes. Elle a pour mission :

- l'identification, la planification et la programmation des activités de développement du secteur maritime ;
- la confection et la préparation des dossiers techniques ;
- la supervision et le suivi de l'exécution des études et programmes ;
- le suivi des relations avec les partenaires des programmes ;
- la cellule est aussi le correspondant des services du Ministère de l'Economie, des Finances et du Plan, en matière de planification, de programmation, d'évaluation et de suivi de l'exécution des programmes du secteur.

Malgré une telle organisation, la pêche artisanale rencontre toujours des difficultés car la défaillance de l'équipement des pirogues en matériels de conservation par le respect de la chaîne de froid constitue toujours un facteur bloquant depuis la capture.

1.8. Capture et conservation à bord des pirogues

Compte tenu de la mondialisation des marchés, la demande croissante de poisson frais de qualité et la prise de conscience des pêcheurs, l'utilisation de la glace à bord a tendance à se généraliser chez les piroguiers. Les espèces capturées sont généralement déposées dans la pirogue sans précaution particulière avant d'être mises dans les caisses en polystyrène contenant de la glace dont la qualité hygiénique est souvent douteuse (Figure 5). Parfois, le poisson est entassé dans la partie médiane de l'embarcation sans dispositif de conservation appropriée. Cet état de fait s'explique en partie par la courte durée des temps de route et de pêche respectivement 2 heures et 4 heures en moyenne.

Pour conserver leurs produits, ils disposent de caisses en polystyrène chargées de glace. Malgré la volonté et les efforts des pêcheurs de vouloir préserver la qualité du poisson, les résultats ne sont pas totalement satisfaisants, puisque au retour de la pêche, la glace fond et le poisson baigne directement dans l'eau dont la température s'élève progressivement. Ces conditions favorisent la croissance microbienne. On constate également qu'avant de conserver le produit dans la glace, il est déposé au fonds de la pirogue, en plein air, sans aucune protection ; d'où le risque de contamination par des micro-organismes.



Figure 5: Piroguiers de retour de pêche (DPM, 2009)

Au débarquement, les caisses contenant le poisson ne sont pas toujours couvertes sans compter les manipulations dans des conditions d'hygiène aléatoires. Le poisson est déposé sur des étals en bois ou à même le sol. Le plus souvent les marchés ne disposent pas d'eau courante permettant un lavage correct du poisson avant la vente. En cas de mévente, les détaillants et semi-grossistes des marchés urbains utilisent de vieux congélateurs domestiques ou des caisses «glacières» disposant d'une isolation précaire où le poisson peut être conservé plusieurs jours avec de la glace achetée dans les concessions. Les produits de la mer étant des aliments dont les qualités organoleptiques, chimiques et microbiologiques se modifient rapidement, ils sont ainsi exposés à des risques de décomposition après la capture. Cette exposition est d'autant plus accentuée lors de la commercialisation du fait de la lenteur dans la distribution des produits. Ces produits sont microbiologiquement sensibles pour plusieurs raisons. D'abord les différentes étapes des processus de transformation comportent d'importantes manipulations, les exposant ainsi aux contaminations. De plus les procédés rudimentaires n'incluent pas toujours d'étapes permettant d'éliminer totalement la flore microbienne du poisson (endogène ou contaminant). Enfin, après la capture et avant leur écoulement total dans le circuit de consommation, ces produits sont souvent conservés plusieurs jours ou semaines à basse température, permettant le développement de micro-organismes psychrotrophes.

1.9. Transformation des produits de la pêche au Sénégal

La transformation des produits de la pêche est un segment important de la filière, par la valeur ajoutée créée, les emplois générés, sa contribution à l'alimentation des populations de l'intérieur ainsi que son poids dans les exportations. Elle se pratique de façon artisanale et industrielle.

1.9.1. Transformation artisanale

En 2011, le volume des produits artisanalement transformés s'élève à 49 881 tonnes pour une valeur commerciale estimée à 21,5 milliards de F CFA. Plus de la moitié de cette production, soit environ 60% est exportée principalement dans les pays de la sous-région (DPM, 2012). La tendance à l'exportation des produits de la transformation artisanale a été observée au milieu des années 1990 et connaît une évolution croissante. Elle se traduit par une baisse des disponibilités sur le marché national.

De 2005 à 2011, on enregistre une stabilité du volume des produits artisanalement transformés, autour d'une moyenne de 45 000 tonnes (DPM, 2012).

La transformation artisanale a toujours rempli une fonction sociale très importante car étant l'apanage des femmes. Elle subit actuellement d'importantes mutations marquées par l'arrivée massive de ressortissants des pays de la sous-région dans cette filière. On constate également une fragilisation croissante du rôle des femmes dans la transformation artisanale pour diverses raisons : compétition dans l'accès à la matière première avec d'autres opérateurs (Industries de farine de poisson sur les sites de pêche artisanale, exportateurs étrangers de produits frais et transformés), faiblesse dans l'organisation des acteurs de la filière et manque de financement approprié pour les activités de la transformation artisanale.

1.9.2. Transformation industrielle

La transformation industrielle est réalisée par des établissements à terre orientés essentiellement vers l'exportation de produits traités et présentés sous diverses formes : entier frais, frais élaboré, congelés, conserves, transformés (DPM, 2012).

Selon toujours le Rapport de la DPM (2012), il a été dénombré 81 établissements à terre dont 73 en activité. Parmi ces 73 unités, 52 sont agréés à l'exportation vers l'UE, soit environ 71%. L'essentiel des établissements à terre est constitué par des unités de transformation de produits frais et congelé (51%) et les ateliers de mareyage de poissons frais entiers (34%). Le reste des établissements est constitué par les unités de production de farine de poisson (7%), les unités de production de poissons salés séchés (3%), les conserveries (3%) et les entrepôts frigorifiques (2%).

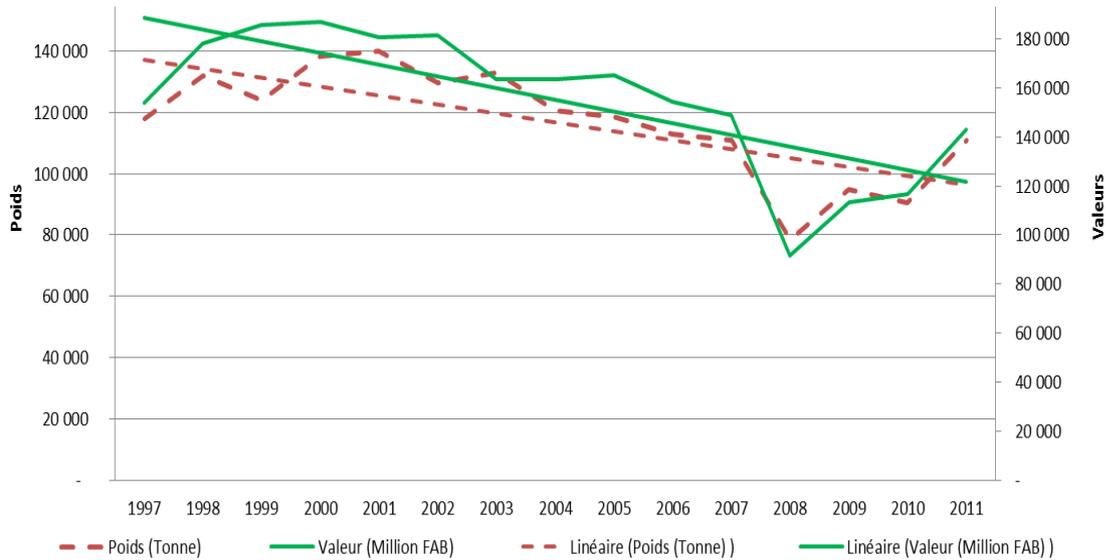


Figure 6: Evolution des exportations en volume et en valeur de 1997 à 2011 (*DPM, 2012*)

1.10. Qualité du poisson

Si les concepts d'analyse des risques ont été élaborés spécifiquement pour garantir la sécurité sanitaire des aliments, on peut appliquer la même approche et le même raisonnement à des aspects tels que la qualité organoleptique, la composition chimique et microbiologique des produits de la pêche. Les prescriptions relatives à la qualité des produits sont définies dans les réglementations nationales, les spécifications commerciales et les normes du *Codex alimentarius*. Comme dans le cas du processus d'évaluation des risques, les agents biologiques, chimiques et physiques susceptibles d'altérer la qualité de certains produits de la mer doivent être identifiés, ce qui suppose de définir une méthode d'évaluation qualitative ou quantitative de l'altération de la qualité.

La composition globale du poisson est principalement de l'eau, des protéines et des lipides. Dans la chair du poisson, ces constituants représentent environ 98%, et les autres constituants mineurs comprennent les glucides, les vitamines et les minéraux (Sikorski, et *al.* 1990). Cependant, la composition chimique du poisson varie généralement selon les saisons, les zones géographiques, les stades de maturité et la taille. La composition spécifique du poisson lui donne une qualité nutritionnelle et sensorielle très appréciée par les consommateurs.

1.10.1. Les protéines

Les protéines des tissus musculaires du poisson peuvent être divisées en trois groupes : les protéines structurelles, les protéines sarcoplasmiques et les protéines du tissu conjonctif.

Les protéines structurelles (actine, myosine,) constituent de 70 à 80 % de la teneur totale en protéines. Les protéines sarcoplasmiques (myoalbumine, globuline et enzymes) représentent de 25 à 30 % des protéines totales et les protéines du tissu conjonctif (collagène) constituent environ 3 %.

Les protéines du poisson renferment tous les acides aminés essentiels et comme les protéines du lait, des œufs et de la viande, elles ont une très haute valeur biologique (Braekkan, 1976). Selon la même étude le poisson est une excellente source d'acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) et peut par conséquent, améliorer de façon significative la valeur biologique dans des régimes à base essentiellement de céréales.

1.10.2. Les lipides

La teneur et la composition lipidique des poissons varient avec l'âge, le cycle sexuel, l'alimentation et les facteurs environnementaux tels que la température et la salinité de l'eau (Corraze and *al.*, 1999). Les lipides du poisson se distinguent des lipides d'autres animaux ou de végétaux par leur forte teneur en acides gras polyinsaturés (AGPI) (Leduc, 2011). Ces acides gras possèdent des propriétés nutritionnelles recherchées et sont impliqués dans la prévention des maladies cardiovasculaires, cancéreuses et inflammatoires (Kamal-Eldin, 2002). Les principaux sites de dépôts lipidiques chez le poisson sont le foie, le muscle, le tissu adipeux périsvical et le tissu adipeux sous cutané (Sheridan, 1988). Cette répartition peut varier selon les espèces. D'après Ackman (1994), les poissons maigres stockent principalement la matière grasse dans le foie (40 à 70 %); les muscles de ces poissons sont pauvres en lipides (5 %). Les poissons gras stockent une forte quantité de lipide au niveau musculaire. La teneur la plus élevée se situe vers la tête et diminue vers la queue et inversement pour les poissons maigres.

1.10.3. Les glucides

La teneur en glucides dans le muscle du poisson est faible (Schulz, *al.* 2005) et est influencée par les conditions de capture, qui peuvent conduire à l'épuisement des réserves de glycogène et ainsi à une diminution du taux de glucide. Dans les conditions anoxiques post mortem, le glycogène continue d'être métabolisé, conduisant à une augmentation de l'acide lactique avec

un abaissement du pH.

1.10.4. Les vitamines et sels minéraux

La teneur en vitamines et sels minéraux est spécifique aux espèces et peut, de plus, varier selon la saison. En général, la chair du poisson est une bonne source de vitamines B et également, dans le cas des espèces grasses, de vitamines A et D. Quelques espèces d'eau douce comme la carpe ont une grande activité thiaminase et, de ce fait, leur teneur en thiamine est généralement basse (Leduc, 2011). En ce qui concerne les éléments minéraux, la chair du poisson est considérée comme une source appréciable de calcium et de phosphore en particulier mais également de fer, cuivre et sélénium.

Une meilleure utilisation des ressources aquatiques passe nécessairement par une amélioration de la qualité et de la conservation des produits de la pêche. Très souvent l'ignorance et le manque de savoir-faire dans la manutention du poisson ou dans l'administration des pêcheries sont parmi les causes qui entravent le progrès dans ce domaine.

1.11. L'exigence qualité dans la pêche artisanale.

L'assurance de la qualité doit être un objectif à atteindre par tous les acteurs de la pêche artisanale. Dans un monde caractérisé par une forte concurrence où la qualité s'impose à tous, le Sénégal, grand pays exportateur des produits de la pêche, rentre également dans cette mouvance de recherche constante de la qualité au niveau de ses entreprises. De toute évidence, la meilleure façon d'éviter l'altération et la perte de qualité est de bien conserver le poisson capturé vivant jusqu'à sa consommation.

L'histoire du développement des pêches artisanales en Afrique de l'Ouest montre bien que souvent l'accent a été mis en priorité sur l'exploitation des ressources sans que les conditions d'une valorisation des mises à terre soient assurées. La motorisation des pirogues a entraîné une croissance des débarquements qui souffre d'une déficience du système de commercialisation. En effet, différents problèmes se posent à la valorisation des produits débarqués par la pêche artisanale du fait de la précarité des procédés de conservation tels que la manipulation à bord des pirogues et au débarquement, la distribution et la transformation artisanale du poisson.

Face à cette situation, les sociétés côtières ont rapidement développé la transformation artisanale, évitant ainsi les pertes après capture.

Dans le cas du poisson, la plupart du temps la qualité se résume à l'aspect esthétique et à la fraîcheur ou bien au degré d'altération du poisson. Elle peut aussi comprendre des aspects de

sécurité telle que l'absence de bactéries et parasites pathogènes ou de produits chimiques toxiques.

Pour mieux apprécier la qualité du poisson, des analyses sensorielles, chimiques et bactériologiques doivent être effectuées. Les méthodes sensorielles doivent être appliquées sur des bases scientifiques afin de minimiser l'influence de l'environnement et les effets subjectifs.

Par ailleurs, la qualité chimique, organoleptique ou bactériologique du poisson varie suivant plusieurs facteurs, telles que les conditions de capture, de débarquement au quai, de transport et de conservation.

En général, lorsqu'une matière biologique est isolée d'un organisme sans conservation optimale, elle se dégrade progressivement sous l'action conjuguée des enzymes et des bactéries. Certains procédés de conservation tels que le salage, le séchage ou la congélation réduisent cette altération progressive par inhibition de la croissance bactérienne et dans une moindre mesure par l'inactivation des enzymes. Le problème de la conservation en parfait état de fraîcheur reste difficile, en raison de l'activité enzymatique des tissus eux-mêmes et de celle des bactéries contaminantes. Il faut considérer successivement trois causes principales d'altération ou de contamination du poisson: le système enzymatique du poisson lui-même (autolyse), la contamination chimique (oxydation) et la contamination bactérienne.

Une absence de protection de la matière favorise donc la multiplication bactérienne. Après sa mort, le poisson peut subir différents changements *post mortem* pouvant être résumés en trois principaux phénomènes :

- les changements sensoriels ou organoleptiques ;
- les altérations autolytiques ;
- les changements bactériologiques.

1.12. Les changements sensoriels influençant la qualité

La fraîcheur est un paramètre déterminant dans la qualité sanitaire du poisson. L'appréciation de la qualité organoleptique du poisson est plus ou moins subjective. Les changements sensoriels sont ceux perçus par les sens, c'est-à-dire : apparence, odeur, texture et goût. Les premières modifications sensorielles du poisson pendant le stockage concernent l'apparence et la texture. Le goût caractéristique des espèces se développe normalement pendant les deux premiers jours de la conservation sous glace. Le changement le plus important est l'établissement de la *rigor mortis*. Immédiatement après la mort, le muscle est totalement

détendu et la texture élastique et souple dure habituellement quelques heures, après quoi le muscle se contracte. Quand il durcit, le corps se raidit et le poisson est alors en état de *rigormortis*. Cet état dure habituellement un jour ou plus et alors la *rigor* disparaît, ce qui détend le muscle à nouveau et le rend souple mais il n'est plus élastique comme avant la *rigor mortis*. Le rapport entre l'apparition et la disparition de la *rigor* varie d'une espèce à l'autre et est affecté par la température, la manutention, la taille et la condition physique du poisson. Il est admis généralement que l'apparition et la durée de la *rigor mortis* sont plus rapides à température élevée mais des observations, surtout sur le poisson tropical, ont montré un effet inverse de la température sur l'apparition de la *rigor mortis*. Il est évident que chez ces espèces, l'apparition de la *rigor mortis* est accélérée à 0°C par rapport à 10°C, ce qui correspond bien à une stimulation des changements biochimiques à 0°C (Poulter et al. 1982; Iwamoto et al. 1987). Cependant Abe and Okuma (1991) ont fourni une explication à ce phénomène en démontrant que l'apparition de la *rigor mortis* chez la carpe (*Cyprinus carpio*) dépend de la différence entre la température de l'eau et celle du stockage. Quand la différence est importante, le délai entre la mort et l'apparition de la *rigor mortis* est court et vice versa. La *rigor mortis* s'installe immédiatement ou très rapidement après la mort quand le poisson est affamé et que les réserves de glycogène sont épuisées ou si le poisson est fatigué. Outre l'apparition de la *rigor mortis*, les changements sensoriels du poisson et donc de sa qualité, sont surtout liés aux changements autolytiques et bactériologiques. Les directives de la CEE élaborées (1976) et Larsen (1992) donnent une description générale pour l'examen de la qualité du poisson. Plusieurs schémas ont été mis au point pour l'analyse sensorielle du poisson cru pendant les cinquante dernières années. La première méthode moderne et détaillée a été réalisée par la Torry Research Station (Shewan et al., 1953). L'idée de base était que chaque paramètre de qualité est indépendant des autres paramètres. Plus tard, l'évaluation a été modifiée en rassemblant un groupe de données caractéristiques devant être exprimées par une note. Ceci donne une valeur numérique unique pour une large variété de caractéristiques. En Europe aujourd'hui, la méthode la plus largement utilisée pour l'évaluation de la qualité par les services d'inspection et dans l'industrie des pêches est le schéma UE introduit dans la décision du conseil No 103/76 de janvier 1976 (tableau I). Il y a trois niveaux de qualité dans ce schéma, E (extra), A et B où E est la qualité supérieure et B le seuil au-dessous duquel le poisson est écarté de la consommation humaine. Le schéma UE est communément accepté dans les pays de l'UE pour l'évaluation sensorielle. Il y a encore cependant quelques désaccords du fait que le schéma ne prend pas en compte les différences entre espèces car il n'utilise que des paramètres généraux. Le guide multilingue pour les degrés de fraîcheur UE

pour les produits de la pêche (Howgate et *al.*, 1992) suggère une mise à jour du schéma UE ou des schémas particuliers pour le poisson blanc, les squales, le hareng et le maquereau sont développés.

Une nouvelle méthode, Méthode d'Indice de Qualité (MIQ), développée au départ par l'unité de Recherche alimentaire de Tasmanie en Australie (Bremner et *al.*, 1985) est maintenant utilisée par le Laboratoire de Lyngby (Jonsdottir, 1992) pour le cabillaud frais et congelé et le hareng.

Tableau I: Barème de cotation de la fraîcheur d'un poisson: Règlement du Conseil (EEC) N° 103/76 OJ N° L20 (28 Janvier 1976), (Larsen *et al.*, 1992)

Critères				
Parties du poisson inspectées	Notes			
	3	2	1	0
Apparence				
Peau	Pigmentation brillante, iridescente; pas de décoloration; mucus transparent, aqueux	Pigmentation brillante mais non luisante; mucus légèrement trouble	Pigmentation en voie de décoloration et terne; mucus laiteux	Pigmentation terne ¹ ; mucus opaque
Œil	Convexe (gonflé); cornée transparente; pupille noire et brillante	Convexe et légèrement enfoncé; cornée légèrement opalescente; pupille noire et terne	Plat; cornée opalescente; pupille opaque	Concave au centre ¹ ; cornée laiteuse; pupille grise
Branchies	Couleur brillante; pas de mucus	Moins colorées, quelques traces de mucus clair	En voie de décoloration; mucus opaque	Jaunâtres ¹ , mucus laiteux
Chair (de l'abdomen)	Bleuâtre, translucide, lisse et brillante; pas de changement de la couleur initiale	Veloutée, cireuse, terne; couleur légèrement altérée	Légèrement opaque	Opaque ¹
Couleur le long de la colonne vertébrale	Incolore	Légèrement rosée	Rose	Rouge ¹
Organes	Les reins et résidus d'autres organes devront être rouges, de même que le sang dans l'aorte	Les reins et résidus d'autres organes devront être rouge terne; sang en voie de décoloration	Les reins, résidus et sang devront être roses	Les reins ¹ , résidus et sang devront être brunâtres
Etat physique				
Chair	Ferme et élastique; surface lisse	Moins élastique	Légèrement molle (flasque), moins élastique, cireuse (veloutée) et surface terne	Molle (flasque) ¹ ; écailles facilement détachables; surface ridée
Colonne vertébrale	Se casse au lieu de se détacher	Adhère	Adhère légèrement	N'adhère pas ¹
Péritoine	Adhère complètement à la chair	Adhère	Adhère légèrement	N'adhère pas ¹
Odeur				
Branchies, peau, cavité abdominale	Odeur d'algues	Pas de mauvaise odeur ni d'odeur d'algues	Légèrement aigre	Aigre ¹

¹ ou tout autre état d'altération plus avancé. *cactusstudiographique - édition 2010*

1.13. Les altérations autolytiques

Avant 1974, on considérait qu'il existait au moins deux sortes d'altération du poisson : bactérienne et enzymatique. Ce n'est qu'en 1974 que Chyama et *al.* ont montré que dans le cabillaud et l'albacore, les changements enzymatiques affectant la fraîcheur du poisson précédant les changements de qualité microbiologique, étaient sans rapport avec ces derniers ; c'est le phénomène d'autolyse. Son explication se trouve dans le fait qu'au moment de la mort du poisson l'apport d'oxygène dans les muscles est interrompu du fait de l'arrêt de la circulation sanguine. Cela entraîne une diminution progressive de la production d'énergie musculaire (Chyama et *al.*, 1974). Pour Leduc (2011), beaucoup de protéases ont été isolées des muscles du poisson et les effets de la dégradation protéolytique provoquent souvent un ramollissement considérable du tissu. L'un des effets les plus notables de la protéolyse autolytique est l'éclatement de l'abdomen chez les espèces pélagiques (poissons gras) comme le hareng et le capelan. Selon Aksnes et Brekken (1988), l'autolyse accélérât le développement des bactéries d'altération en fournissant un environnement favorable à leur croissance. En 1992, Botta, Kennedy et *al.* ont trouvé que l'autolyse de la cavité viscérale des harengs était davantage liée à la manutention physique qu'à des facteurs biologiques comme la taille du poisson, les aliments dans les viscères. Stagg et *al.* (2012) ont montré que l'état physiologique du thon listao cru et des conditions abusives de conservation (durée, température) peuvent s'additionner ou interagir en synergie avec des conditions insuffisantes de précuisson pour affecter défavorablement la qualité texturale du poisson.

1.14. Production d'énergie post mortem dans le muscle

Au cours de la lutte que mène le poisson accroché à l'hameçon, son glycogène musculaire s'épuise, tandis que l'acide lactique s'accumule rapidement dans son sang. En quelques minutes, la moitié des réserves en glycogène est réduite par l'effort que le poisson fournit. Plus longtemps le poisson lutte, plus grande est l'accumulation d'acide lactique. Le glycogène et les graisses sont alors oxydés ou «brûlés» par les enzymes des tissus à travers une série de réactions qui, à terme, produisent du gaz carbonique de l'eau et un composé riche en énergie, l'adénosine triphosphate (ATP). Ce type de respiration se réalise en deux étapes: l'une anaérobie et l'autre aérobie. Cette dernière dépend de la présence continue d'oxygène (O₂) qui ne peut provenir que du système circulatoire. La plupart des crustacés sont capables de respirer hors de l'élément aquatique en absorbant l'oxygène atmosphérique pendant de courtes périodes (Chyama et *al.* 1974). Pour beaucoup de poissons, la glycolyse est la seule

voie possible de production d'énergie après l'arrêt cardiaque. Dans ce cas, les produits finaux sont essentiellement de l'acide lactique et pyruvique (Multon et *al.* 1994). La quantité d'acide finale dépend donc de la réserve de glycogène. L'activité musculaire et le manque d'oxygène contribuent à la baisse du stock de glycogène. Le mode de pêche intervient également dans la qualité du poisson. Il importe de rechercher des méthodes de pêche qui tuent le poisson sans que l'organisme n'ait le temps de réagir (Ishikawa 1981). Selon toujours le même auteur, l'acidification momentanée des muscles a pour effet la modification de la texture des protéines conduisant ainsi à leur dénaturation d'où une baisse de la valeur nutritionnelle du poisson. La quantité d'acide lactique produite est en rapport avec la quantité de glucide (glycogène) accumulé dans le tissu vivant. En général, le muscle de poisson contient un taux assez faible de glycogène comparé aux mammifères et donc il se forme moins d'acide lactique après sa mort. Son état nutritionnel, le stress et la fatigue avant la mort ont également un impact important sur les niveaux du glycogène stocké et par la suite sur le pH final *post mortem*. En règle générale, un poisson bien reposé et bien nourri contiendra plus de glycogène qu'un poisson épuisé. Une étude faite sur la loche japonaise (*Nemacheilus barbatula*), Hamaguchi et *al.* (1991) a montré que quelques minutes seulement de stress avant capture produisaient une baisse de 0,50 unités de pH en trois heures alors que, dans un poisson qui ne s'est pas débattu, le pH diminuait uniquement de 0,10 unités dans le même temps. Les mêmes auteurs ont également montré que la saignée du poisson réduisait de façon significative la production *post mortem* d'acide lactique.

La réduction du pH *post mortem* du muscle du poisson affecte les propriétés physiques du muscle. Quand le pH chute, la charge nette des protéines musculaires est réduite, causant leur dénaturation partielle et la perte d'une partie de leur capacité de rétention d'eau. Love (1975) a montré qu'il y a un rapport inverse entre la dureté du muscle et le pH. De même, la contraction musculaire en soi est contrôlée par le calcium et une enzyme l'ATP-ase que l'on trouve dans chaque cellule musculaire (Leduc, 2011). Selon le même auteur, quand les niveaux intracellulaires de Ca^{2+} sont supérieurs à 1 mM, l'ATP-ase activée par le Ca^{2+} réduit la quantité de l'ATP musculaire libre, ce qui conduit à l'interaction entre les principales protéines contractiles, l'actine et la myosine. Ceci produit finalement la contraction du muscle, le rendant dur et inextensible. Un poisson en état de *rigor mortis* ne peut normalement pas être fileté ou traité car la carcasse est trop raide pour être manipulée et est souvent déformée, rendant impossible le traitement mécanique. La disparition de la *rigor mortis* est un processus qui n'a pas encore été entièrement élucidé mais qui produit toujours le ramollissement (détente) du tissu musculaire. Elle serait reliée à l'activation d'une ou de

plusieurs enzymes naturelles du muscle, digérant certains composants du complexe de *rigor mortis*. Le ramollissement du muscle durant la résolution de la *rigor* (et éventuellement les processus d'altération) coïncide avec les changements autolytiques. Une des premières modifications qu'on décèle est la dégradation des composés reliés à l'ATP de manière plus ou moins prévisible après la mort.

1.15. Altérations autolytiques pendant la conservation du poisson congelé

Dans les produits de la mer, l'Acide Basique Volatil Total (ABVT) comprend principalement la triméthylamine (TMA, produite par les bactéries d'altération), l'ammoniac (produit par désamination des acides aminés et des catabolites de nucléotides), la diméthylamine (DMA, produit par les enzymes autolytiques durant la congélation) (Malle and *al.*, 1989), (Amir and *al.*, 2012). Selon cette étude, ces indicateurs ne sont pas performants sur toutes les espèces. Ce sont plutôt des indicateurs qui reflètent les stades d'altération plutôt que la fraîcheur mais ils restent encore utilisés de nos jours.

La réduction de l'oxyde triméthylamine (OTMA), un composé osmorégulateur dans de nombreux poissons marins, est habituellement due à l'action bactérienne. Mais, dans certaines espèces le tissu musculaire contient une enzyme musculaire capable de dégrader l'OTMA en diméthylamine (DMA) et en formaldéhyde (FA). Le formaldéhyde provoque des liaisons croisées des protéines musculaires, ce qui durcit le muscle et lui fait perdre rapidement sa capacité de rétention d'eau. Le durcissement du muscle de merlu congelé est lié à la quantité de formaldéhyde produite. Le taux de production de FA est le plus important aux températures les plus fortes de congélation (Gill, et *al.* 1979). De plus, il a été constaté que l'importance du durcissement dû au FA est augmenté par la mauvaise manutention infligée au poisson avant la congélation et par les variations de température au cours de la conservation en congelé. Les moyens les plus pratiques pour prévenir la production autolytique de formaldéhyde sont de conserver le poisson à des températures inférieures à -30°C pour réduire les variations de température lors de la conservation et d'éviter les manipulations brutales ou l'application de pression physique sur le poisson avant de le congeler (Leduc, 2011).

La TMA constitue la plus grande partie de l'azote basique volatil total (ABVT). Cependant, il faut remarquer que dans le poisson altéré où l'OTMA est épuisé et où la TMA a atteint sa concentration maximale, le taux d'ABVT s'élève du fait de la formation de NH₃ et d'autres amines volatiles (Leduc, 2011). Selon Leduc (2011), chez certains poissons qui ne renferment

pas d'OTMA ou dont la dégradation est due à une flore non réductrice de l'OTMA, on observe une faible augmentation du taux d'ABVT, probablement due à une désamination des acides aminés

Plusieurs expériences ont montré que les muscles des poissons marins sont normalement stériles ; quant à ceux des eaux douces, ils sont souvent contaminés par leur nourriture. La peau, les branchies et toutes les parties du corps qui sont en contact avec l'eau abritent de nombreux germes.

D'après Bene et *al.* (2001), la triméthylamine (TMA), la diméthylamine (DMA) et l'ammoniac sont les trois plus importantes molécules produites lors de la perte de la fraîcheur du poisson. Cependant, l'ammoniac n'est pas un bon indicateur car c'est une molécule présente en très grande quantité dans le poisson. Les réactions de formation de ses molécules sont : l'OTMA (oxyde de triméthylamine) donne la DMA + formaldéhyde par action d'enzymes endogènes et l'OTMA aboutit à la formation de la TMA par action d'enzymes bactériennes. Le formaldéhyde agit sur la texture du poisson en s'imbriquant dans les protéines des fibres musculaires. Cette molécule est donc difficilement quantifiable. Bianchi, Careri et *al.* (2007) ont réalisé des études sur la quantification de formaldéhyde sur différentes espèces de poisson avec différents modes de conservation. L'OTMA est une molécule qui est retrouvée dans les poissons frais non-surgelés. Par contre, selon Lundstrom et *al.* (1982), la DMA est produite essentiellement pendant le stockage en congélation. La TMA provient de la dégradation de l'oxyde de TMA par des enzymes bactériennes. Elle est donc liée à la contamination bactérienne des poissons marins réfrigérés (Baixas et *al.*, 2001).

1.16. Les changements bactériologiques

Les bactéries majoritaires des poissons marins d'eaux tempérées sont généralement des bacilles psychrophiles à Gram négatif, appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Moraxella*, *Flavobacterium*... mais des bactéries à Gram positif comme *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus* ou *Clostridium*, peuvent également être présentes dans des proportions variables (Shewan, 1971 ; Hobbs, 1983 ; Gram et Huss, 1996, Leroi., 2010). Les charges bactériennes les plus fréquemment rencontrées varient de 10^3 à 10^7 germes/cm² de branchies, 10^2 à 10^5 germes/cm² de peau et 10^3 à 10^5 germes/g de fèces (Abgrall, 1988 ; Mouna, 2012). Chez les poissons tropicaux, la flore a globalement la même composition, mais avec une prédominance de bactéries à Gram positif et d'entérobactéries (Liston, 1980). A la mort du poisson et au cours des opérations d'éviscération, étêtage, filetage

et parage, les micro-organismes peuvent contaminer la chair et se retrouvent souvent tout au long de la chaîne de fabrication et jusque dans le produit fini.

Une étude menée par Soudan en 1962 révèle que le tractus digestif généralement contaminé par des bactéries en majorité anaérobies facultatives, s'auto-épure et peut devenir stérile quand le poisson cesse de se nourrir. La mort du poisson entraîne l'interruption interne de l'équilibre électrostatique des tissus. Les bactéries commencent leur diffusion depuis les foyers habituels d'infection vers l'intérieur des muscles. Cette diffusion se fait facilement par l'intermédiaire des vaisseaux sanguins et à partir de la cavité abdominale. L'altération bactérienne variera d'intensité et d'orientation en fonction de la nature de la flore microbienne, de son importance numérique et de ses facilités de diffusion et de reproduction. L'altération microbienne, est très sensible aux conditions de température car celle-ci influe sur l'activité et la croissance des bactéries. L'altération due aux bactéries se caractérise par la production de substances simples qui sont normalement absentes de l'organisme. Elle est due généralement à la flore du milieu ambiant, eau, air et fond. Cette flore varie selon que l'on est en mer ou en eau douce. La flore marine se distingue par sa particularité d'être composée de germes qui ne sont pas toujours rencontrés chez l'homme ou les animaux terrestres. Cependant, dans une eau polluée, il est possible de rencontrer des germes variés parmi lesquels éventuellement ceux responsables de la typhoïde du typhus, de la dysenterie et autres maladies. Du fait des vents, des courants ou marées, la flore de surface peut être modifiée par des apports extérieurs mais celle de haute mer ou des fonds change peu.

Selon la même étude publiée par Soudan (1962), les microorganismes qui semblent rarement libres sont dispersés dans la mer comme les matériaux qui les supportent, algues ou planctons. Cette flore marine varie en fonction des saisons, de l'insolation et de la salinité. La prédominance dans le mucus de *Pseudomonas*, *Achromobacter* et *Flavobacterium* semble bien universelle et reconnue de tous. Les autres germes cités le plus souvent sont les *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Proteus*, *Bacillus* et des *Cocci* qui sont principalement des *Micrococcus* et des *Sarcinia*. Tous ces micro-organismes sont aérobies ou anaérobies facultatifs. Aucun germe anaérobie strict n'a été trouvé dans le mucus. La flore des branchies est semblable à celle du mucus et de l'eau libre. La flore intestinale qui dispose d'un milieu plus riche que l'eau de mer se différencie par sélection et sous influence des ingestats en provenance des zones autres que l'habitat normal du poisson.

Lorsque les animaux aquatiques se déplacent, respirent ou se nourrissent, beaucoup de micro-organismes de l'eau qui viennent à leur contact sont absorbés par le mucus de la peau, les branchies ou par l'intestin du poisson (tableau II).

Tableau II: Nombre de bactéries trouvées dans les poissons aussitôt après la mort

ESPECES	Mucus Nb / cm ³	Peau Nb / cm ³	Branchies Nb / cm ³	Contenu intestinal Nb / cm ³	Auteurs
Saumon (<i>Oncorhynchus spp</i>)	400				Fellers (1926)
Hareng (<i>Clupea harengus</i>)				3. 10 ³ à 20 10 ³	Hunter(1922) Aschehoug et Westerhus (1947)
Maquereau (<i>scomber spp</i>)				10 ³ à 60 10 ⁶	Kiser et Beckwith (1942)
Morue (<i>Gadus morhua</i>)		10 ² à 3.10 ³		0 à 10 10 ⁶	Shewan (1942)
Limande-sole (<i>Microstomus kitt</i>)		10 ³ à 10 ⁵	10 ⁴ à 10 ⁶	10 ³ à 10 10 ⁶	Liston (1956)
Raie (<i>Raja clavata</i>)		10 ³ à 10 ⁵	10 ³ à 10 ⁶	10 ³ à 10 10 ⁶	Liston (1956)
Espèce non précisée		10 ² à 10 ⁶		10 ³ à 10 10 ⁶	Lucke et Schwartz (1942), Spencer (1957)
Poisson de zone côtière méditerranéenne		10 ² à 10 ⁴		10 ⁶ dont de nombreuses entérobactéries	Guelin (1952) Castell (1954)

Source : *Conservation par le froid des produits, crustacées et mollusques. F. Soudan (1962)*

Des études menées par Sakaguchi et *al.* (1980) au Japon, ont permis de déceler une charge élevée de micro-organismes dans le tractus gastro-intestinal du poisson, bien supérieure à celle des eaux environnantes; ce qui indique la présence d'une niche écologique favorable à ces micro-organismes.

De même, Larsen et *al.* (1978) ont trouvé jusqu'à 10⁷ « unités formant colonie par gramme » (UFC/g) du genre *vibrio* dans l'appareil intestinal du Cabillaud (*Gadus morhua*) tandis que Westerdahl et *al.* (1991) en ont isolé un grand nombre dans les intestins du turbot.

La chair du poisson sain, vivant ou fraîchement pêché est stérile car le système immunitaire du poisson empêche les bactéries de se multiplier et de proliférer dans sa chair. A la mort du

poisson, l'effondrement du système, immunitaire favorise une croissance libre des bactéries. A la surface de la peau, les bactéries colonisent largement les alvéoles des écailles. Pendant le stockage, elles envahissent la chair en se déplaçant entre les fibres musculaires.

Murray et Shewann (1979) ont montré qu'un nombre très limité de bactéries envahissent la chair du poisson pendant la conservation sous glace.

Les travaux de Leduc (2011) révèlent que seul un nombre limité de microorganismes envahit réellement la chair du poisson et que le développement microbien se situe essentiellement à la surface. De ce fait, l'altération s'avère probablement pour une grande part, être une conséquence de la diffusion des enzymes bactériennes dans la chair.

Selon Ruskol et Bendsen en (1992), la vitesse d'altération du poisson est très variable. Ce phénomène est dû aux propriétés de la surface du poisson et aux textures très différentes. Ainsi, le merlan (*Merlangius merlangus*) et le cabillaud (*Gadus morhua*) qui ont un tégument très fragile s'abîment rapidement comparés à différents poissons plats comme le carrelet qui possède un derme et un épiderme très robuste. Ces derniers ont de plus une couche épaisse de mucus qui comprend plusieurs substances antibactériennes et des enzymes bactériolytiques (Murray et Fletter, 1976).

Les bactéries du poisson pêché entreront en phase de croissance exponentielle immédiatement après la mort du poisson si celui-ci n'est pas conservé à une basse température. Par ailleurs, si le poisson est glacé et placé dans des conditions anaérobies, le nombre de bactéries est souvent plus faible. Certaines bactéries psychrophiles sont dotées de capacité d'altérer le poisson à des températures de réfrigération.

L'identification des bactéries d'altération du poisson n'est pas une tâche facile car elle fait appel à des études sensorielles, microbiologiques et chimiques poussées. Les changements sensoriels, microbiologiques et chimiques doivent être étudiés et quantifiés, y compris la détermination de la teneur d'un composé chimique donné qui présente une bonne corrélation avec l'altération lors des analyses microbiologiques.

Shewam (1962) a mené une étude selon laquelle la comparaison des composés chimiques qui se développent dans le poisson au cours de sa dégradation naturelle et dans le poisson stérile a montré que la plupart des composés volatils sont produits par les bactéries. Ceux-ci comprennent la triméthylamine, les composés soufrés volatils, les aldéhydes, les cétones, esters et autres composés de faible poids moléculaire.

Certaines bactéries présentes dans le poisson ont la capacité de respirer avec une production d'ATP en utilisant d'autres molécules comme accepteurs d'électrons. C'est ainsi que plusieurs bactéries utilisent comme accepteur final d'électrons l'oxyde de triméthylamine

(OTMA) par la respiration anaérobie. La réduction de l'OTMA conduit à la formation de la Triméthylamine (TMA) qui est un des composants dominants du poisson altéré qui est caractérisée par une odeur typique.

D'après Sakaguchi (1980), la réduction de l'OTMA est surtout associée au genre de bactéries typiques de l'environnement marin (*Alteromonas*, *photobacterium*, *vibrio* et *Pseudomonas putrefaciens*) et aux bactéries intestinales de la famille des entérobactéries.

De nombreuses technologies basées sur l'utilisation de la chaîne de froid, de la chaleur ou des agents chimiques de conservation ont été développées afin d'allonger la durée de conservation des produits de la pêche. Actuellement, de nouvelles stratégies de biopréservation utilisent les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques, particulièrement celles productrices de bactériocines (Dortu et *al.*, 2009). Cette technologie permet d'obtenir des produits de bonne qualité microbiologique avec moins de conservateurs chimiques.

II. Les bactéries lactiques et la bioconservation du poisson et des produits halieutiques.

2.1. Définition et caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquitaires susceptibles d'être retrouvés dans tous les types d'habitat. Elles accompagnent l'activité humaine au quotidien, en temps que bactéries de la flore commensale, de la flore intestinale ou de la flore alimentaire. Une caractéristique commune permet cependant de les unifier en un seul et vaste groupe : leur capacité à fermenter les hydrates de carbone en acide lactique (Dellaglio *et al.*, 1994). Elles sont en général des microorganismes Gram (+) utilisant comme source d'énergie, les sucres et les acides aminés. Elles sont immobiles, asporulées, anaérobies ou aérobies et sont dépourvues de cytochromes oxydase, de catalase et de nitrate réductase (Kouakou, 2011) ; mais certaines souches sont pseudo catalases. Les bactéries lactiques sont soit coccoïdes, soit coccobacillaires ou soit bacillaires. Elles comprennent les genres *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, et *Vagococcus* (Cogan, 1996 ; Stiles *et al.*, 1996). D'autres auteurs incluent dans ce groupe le genre *Bifidobacterium* (Wood et Holzappel, 1995).

Les bactéries lactiques sont capables de coloniser différents types de milieux de culture. On les rencontre dans plusieurs produits alimentaires tels que le lait, le fromage et les saucisses. Elles sont pour la plupart mésophiles mais sont susceptibles de se développer à des températures oscillant entre 4°C et 45°C et à des pH compris entre 4 et 6,5. Du point de vue nutritionnel, les bactéries lactiques ont besoin pour leur développement des substances carbonées, de l'azote et des vitamines. Le milieu de culture doit donc pouvoir apporter des sucres fermentescibles, des acides aminés et des sels.

2.2. Historique

C'est en 1782 que le chimiste suédois Scheele découvre pour la première fois les bactéries lactiques. Plus tard, Pasteur a mis en évidence la production d'acide lactique par fermentation à partir des microorganismes. En 1900, Metchnikoff a mis en exergue les effets de l'administration des bactéries du yaourt au niveau de l'intestin (Thonart, 1997). Les bactéries lactiques sont généralement considérées sûres et utilisées comme starters (culture de départ) pour améliorer la conservation des denrées alimentaires fermentées. Ces bactéries réalisent dans les aliments crus une acidification, une production d'arômes, en plus de l'inhibition des bactéries indésirables et pathogènes par la production d'une variété de substances

antimicrobiennes tels que des acides organiques (acétique et lactique), du peroxyde d'hydrogène, du diacétyl, d'acides gras antifongiques, de l'acide phényl-lactique, et/ou de bactériocines (Corsetti, L, *al.* 2004). Selon O'Sullivan et *al.* (2002), les bactériocines de bactéries lactiques font partie de la gamme de conservateurs naturels utilisés pour améliorer la conservation et la sécurité des denrées alimentaires.

Les bactéries lactiques sont connues pour leur capacité à produire lors de leur croissance des composés actifs antimicrobiens à savoir les acides organiques (acide acétique, acide lactique) qui acidifient le milieu, des dérivés du métabolisme de l'oxygène (H₂O₂) et des substances naturelles de nature protéique douées d'une activité antagoniste à l'encontre d'un grand nombre de germes d'altération, leur permettant de se développer préférentiellement dans divers écosystèmes (Corsetti et *al.*, 2004). Ces bactéries lactiques appartiennent à divers genres comme *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* etc. Ces microorganismes exercent une action antagoniste sur la croissance des micro-organismes indésirables et/ou pathogènes capables de dénaturer la chair du poisson. (Vermeiren et *al.*, 2004).

En effet, les bactéries lactiques à travers leurs bactériocines sont capables d'assurer la conservation des denrées alimentaires. Les travaux menés par Hugas (1997) ont permis de mettre en évidence l'activité inhibitrice d'une bactériocine appelée curvacine A, sur *Listeria monocytogenes* dans la viande. Dans des travaux similaires, Messens et *al.* (2003) ont mis en exergue dans les saucisses, l'action bactériostatique de cette substance antimicrobienne sur la souche de *Listeria monocytogenes*.

Quelques bactériocines présentent des propriétés qui les placent parmi les substances sans danger pour l'Homme, comme en particulier l'absence de toxicité pour les cellules eucaryotes et la perte d'activité en présence des protéases présentes dans le tube digestif (Gálvez et *al.*, 2011). Par ailleurs, leur résistance aux variations de pH (pour quelques unes d'entre elles comme la lacticine 3147) et aux traitements thermiques, leur activité antimicrobienne bactéricide contre des bactéries pathogènes colonisant les produits alimentaires et l'absence de résistance croisée avec les antibiotiques en font de bons candidats pour la bioconservation des aliments (Gálvez et *al.*, 2007). Elles doivent cependant, pour le moment, être considérées comme un moyen de conservation complémentaire à ceux déjà existants (Deegan et *al.*, 2006). Pour permettre leur bioconservation, les aliments sont supplémentés en bactéries productrices et/ ou directement en bactériocines.

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens synthétisés par voie ribosomique, naturellement produits par des bactéries à Gram négatif telles que les entérobactéries et plus

souvent par des bactéries à Gram positif telle que les bactéries lactiques. Elles sont actives contre d'autres bactéries mais surtout contre des pathogènes majeurs tels que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ou *Streptococcus pneumoniae*. Aussi, les bactériocines produites par les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène de peptides antimicrobiens qui se distinguent par leur structure et leur mode d'action. De nombreuses recherches ont porté sur l'étude des bactériocines produites par les bactéries lactiques pour mieux comprendre leurs relations structure-fonction et favoriser ainsi leurs applications. Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont déjà largement utilisées par l'industrie agroalimentaire pour leurs propriétés de bioconservation (Gálvez *et al.*, 2011).

Par ailleurs, l'émergence de la résistance des bactéries pathogènes à l'antibiothérapie a orienté l'industrie pharmaceutique vers la découverte de nouvelles molécules antimicrobiennes. Grâce à leur mode d'action différent des antibiotiques conventionnels, les bactériocines comme la mersacidine ou la lacticine 3147, pourraient être considérées comme une alternative au contrôle de la prolifération et à l'inhibition des souches bactériennes pathogènes devenues résistantes aux traitements usuels. De nombreuses bactériocines sont actuellement à l'étude pour être utilisées comme traitement médical (Dicks *et al.*, 2004).

2.3. Activité antimicrobienne des bactéries lactiques

Certaines techniques de conservation suffisent à elles seules à préserver un aliment pour une durée satisfaisante. Dans le cas de la pasteurisation ou de l'appertisation, la majorité des flores présentes sur le produit est détruite par la chaleur, et le conditionnement hermétique empêche une recontamination ultérieure. De même le salage ou le séchage modifient de façon radicale le produit (taux de sel supérieur à 15-20%, aw très basse...), ce qui retarde la croissance des flores susceptibles d'entraîner une altération.

Cependant ces techniques s'accompagnent d'une transformation importante du produit. De plus en plus de consommateurs préfèrent aujourd'hui des produits moins fortement préservés, ce qui permet de retrouver des qualités organoleptiques plus proches du produit d'origine. Ainsi, une approche permettant d'obtenir une bonne conservation des aliments sans les soumettre à des transformations trop marquées est l'utilisation de la technologie des barrières (Leistner, 2000). Cela consiste à appliquer successivement plusieurs procédés ralentissant la croissance des microorganismes sur les aliments et ayant peu d'effet sur la qualité organoleptique du produit.

Les bactéries lactiques jouent un rôle de choix dans la fermentation des denrées alimentaires et dans leur durée de conservation. Cette aptitude à assurer ce rôle est la conséquence directe

de leur activité antimicrobienne liée à leur capacité à produire, lors de leur croissance, des métabolites à action bactériostatique ou bactéricide. Ces métabolites sont les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, les enzymes, les substances de faibles poids moléculaires et surtout les bactériocines.

2.3.1. Les acides organiques

Les acides organiques présents dans l'aliment sont soit des additifs alimentaires soit des produits finaux de la fermentation. Les plus fréquemment rencontrés sont l'acide acétique, l'acide lactique, l'acide propionique, l'acide citrique, l'acide sorbique et l'acide benzoïque. Lors de la fermentation réalisée par les bactéries lactiques, l'acide acétique et l'acide lactique sont de loin les plus produits. Ils sont généralement reconnus comme des agents non toxiques pour la préservation des aliments (El-ziney, 1998). Ces acides agissent sur les micro-organismes indésirables par réduction du pH intracellulaire pour ainsi ralentir les activités métaboliques de ces derniers.

En effet, l'acide lactique, produit essentiel de la fermentation lactique, est susceptible de diminuer le pH à un niveau où certains micro-organismes tels que *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Clostridium botulinum* sont inhibés ou détruits (Wood et Holzapfel, 1995). Mais force est de noter que tous les acides organiques ne présentent pas les mêmes degrés d'inhibition. De fait, il a été montré qu'en raison de sa forte constante de dissociation, l'acide acétique est plus efficace que l'acide lactique. Selon Kabara et Eklund (1991), la réduction du pH intracellulaire des organismes cibles n'est pas le seul mécanisme d'action des acides organiques. Ils sont également capables d'augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire.

2.3.2. Le peroxyde d'Hydrogène

Il est produit par un certain nombre de bactéries lactiques en présence d'oxygène (Klandler, 1983). En effet, dépourvues de catalase, les bactéries sont incapables de dégrader le peroxyde d'Hydrogène qui par accumulation, oxyde les lipides membranaires et les protéines cellulaires des organes cibles (Lindgren et al., 1990). En outre il est également capable d'agir sur la membrane cellulaire par augmentation de sa perméabilité (Kong et Davidson, 1980). La tolérance à cette molécule dépend du type de produit et des conditions d'application. Elle joue un rôle capital dans la qualité sensorielle des viandes (Wood et Holzapfel, 1995).

2.3.3. Les bactériocines

Ce sont des peptides ou des protéines antimicrobiennes à effet bactéricide dirigé contre les espèces généralement apparentées aux bactéries productrices (Klaenhammer, 1988). Leur spectre d'action bactéricide généralement étroit, comprend des souches appartenant à la même espèce que la souche productrice. Cette dernière produit une protéine d'immunité pour se protéger des effets délétères de la bactériocine qu'elle produit (Jack et *al.*, 1995). Contrairement aux antibiotiques classiques, les bactériocines sont synthétisées par voie ribosomique, généralement par des bactéries à Gram positif appartenant au groupe des bactéries lactiques. Elles peuvent subir ou non des modifications post-traductionnelles avant d'être excrétées dans le milieu extérieur. Cependant, la plupart ont une activité contre des pathogènes alimentaires tels que *Listeria monocytogenes*. Puisqu'elles agissent sur la membrane cellulaire, les bactériocines ne sont généralement actives que contre les bactéries à Gram positif. Cependant, en situation de stress (pH bas, stress au froid ou à la chaleur, présence de chélateurs, absence d'ions métalliques, stress au sel...), certaines bactéries à Gram négatif sont sensibles à l'action de certaines bactériocines. Ainsi, des études de Einarsson, H. en 1995 ont montré une augmentation de la durée de conservation de 21 jours de crevettes salées, additionnées de SCN bactéricides d'une souche de *Lactococcus lactis* SIK-83. Diop, et *al.*, (2007) ont montré que l'addition de chlorure de sodium à une concentration de 0,14 mg/ml dans le SCN de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410, permet de prolonger la durée de conservation de filets de poissons conservé à 4°C.

2.4. Caractéristiques des bactériocines de *Lactococcus lactis*

2.4.1. Historique

C'est grâce aux travaux de Gratia (1925), à l'université de Liège, portant sur une souche de *E coli* en milieu liquide, que la première bactériocine a été découverte. Elle fut baptisée colicine et présentait une activité antibactérienne vis-à-vis d'autres souches de *E coli*. Rogers (1928) observa l'inhibition de la croissance de différentes bactéries lactiques par un métabolite produit par *Streptococcus lactis* appelé actuellement *Lactococcus lactis* (Mc Auliffe et *al.*, 2001). En 1946, Gratia et Frederiq proposent le nom de colicine car ils ont noté que de nombreux antibiotiques du même genre sont produits par plusieurs entérobactéries. En 1953, Jacob a proposé le nom de bactériocine. Selon Jacob, Les bactériocines sont des protéines bactéricides caractérisées par un spectre d'activité étroit qui agissent sur la membrane cellulaire de la bactérie sensible en se fixant sur des sites de réception spécifiques. Plus tard, d'autres caractéristiques qui distinguent les colicines ont été incluses telles que leur masse

moléculaire relativement élevée et l'association de leur biosynthèse aux plasmides. La plupart des études réalisées ont été descriptives (Fredericq, 1957, 1963), les méthodes de base d'isolement et de caractérisation des souches productrices de bactériocines ont été établies. Des études de la génétique de la colicine et du transfert de son plasmide d'une cellule à l'autre ont été également réalisées. Depuis 1976, l'intérêt des chercheurs s'est dirigé principalement vers les bactériocines produites par les bactéries gram positif et notamment les bactéries lactiques (Tagg et *al.*, 1976) ; de nombreuses études sur la biologie moléculaire de ces bactériocines ont été réalisées en mettant l'accent sur leur biosynthèse, leur libération, leur mode d'action mais surtout les potentialités de leur application en tant que conservateurs alimentaires (Geli et Lazdunski, 1992; Lakey et *al.*, 1993).

2.4.2. Définition

Les bactériocines, produites par les bactéries Gram (+) et Gram (-), représentent un groupe hétérogène de substances antimicrobiennes dont le poids moléculaire et les propriétés biochimiques, peuvent varier (Klaenhammer, 1988). Ainsi, définir une bactériocine reste de loin un problème complexe. Toutefois, Tagg et *al.* (1976) furent les premiers à proposer cinq critères pour les caractériser à savoir :

- La présence d'une part d'une partie protéique biologiquement active ;
- Un spectre d'activité limité aux espèces taxonomiquement proches ;
- Un mode d'action bactéricide ;
- L'adsorption à un récepteur spécifique ;
- Une biosynthèse gouvernée par les plasmides.

Mais les travaux ultérieurs menés par d'autres auteurs (Dhindale et *al.*, 2009), ont montré que certaines bactériocines produites par les bactéries Gram(+) et singulièrement celles synthétisées par les bactéries lactiques ne répondent pas totalement à ces critères suscités. C'est le cas de la lactacine B et de l'helveticine J dont les gènes responsables de leur biosynthèse sont situés sur des chromosomes. En outre la majorité des bactériocines des bactéries lactiques ont la capacité de s'adsorber à des récepteurs spécifiques. A ce titre, plusieurs définitions plus simples ont été proposées. La plus acceptée et la plus plausible est celle énoncée plus haut par Klaenhammer (1998), selon laquelle, les bactériocines seraient des substances de nature protéique ayant un spectre d'activité limité aux espèces proches de la souche productrice avec un mode d'action bactéricide.

2.5. Classification

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont divisées en trois groupes principaux: les bactériocines connues sous le nom des lantibiotiques (classe I), les bactériocines thermostables non modifiées (classe II), et les bactériocines thermo-sensibles ayant des poids moléculaires élevés (classe III) (Klaenhammer, 1993, Nes *et al.*, 1996) selon Ghalfi (2008), un quatrième groupe (classe IV) avec des bactériocines complexes portant des parties lipidiques ou glycosylées est souvent inclus dans les classifications de bactériocines. La majorité des bactériocines étudiées chez les bactéries lactiques appartiennent à la classe I et à la classe II car elles sont thermorésistantes et présentent donc un intérêt industriel dans la conservation alimentaire, comparées aux bactériocines de la classe III.

2.5.1. Classe I

Elle regroupe les bactériocines modifiées, appelées lantibiotiques. Ce sont de petits peptides de taille inférieure à 5 kDa, contenant des acides aminés inhabituels provenant de la déshydratation de la sérine ou de la thréonine, pour ensuite aboutir aux lantionines et aux méthyl-lantionines (Dzung *et al.* 2002). Les lantibiotiques sont actifs contre de nombreuses bactéries pathogènes, comme *Listeria* ou *Salmonella*, responsables d'infections. Cette particularité permet aux lantibiotiques d'être utilisés comme conservateurs alimentaires (Cotter *et al.*, 2005b). Produite par *Lactococcus lactis* (Yamazaki *et al.* 2000), la nisine est la bactériocine la plus étudiée de cette classe (Jung et Sathl, 1991). Sur la base de leur propriété physique et fonctionnelle, les lantibiotiques sont divisibles en deux grands groupes qui sont les types Ia et Ib.

Les bactériocines du type Ia sont des molécules cationiques amphiphiles agissant sur leur cible par formation de pores alors que les bactériocines de type Ib, sont des molécules globulaires chargées soit négativement soit ne présentent pas de charge nette (Twomey, 2002), altèrent la synthèse de la paroi cellulaire des organismes cibles (Altena *et al.* 2002) et les enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN et l'ARN (Dzung *et al.* 2002).

Le mécanisme menant à la formation de pores par la nisine peut être divisé en plusieurs étapes. La première étape est la fixation à la membrane de l'organisme cible, souvent suivie par l'insertion dans la phase lipidique de la membrane. Cette étape d'insertion mènera finalement à la formation de pores (figure 7).

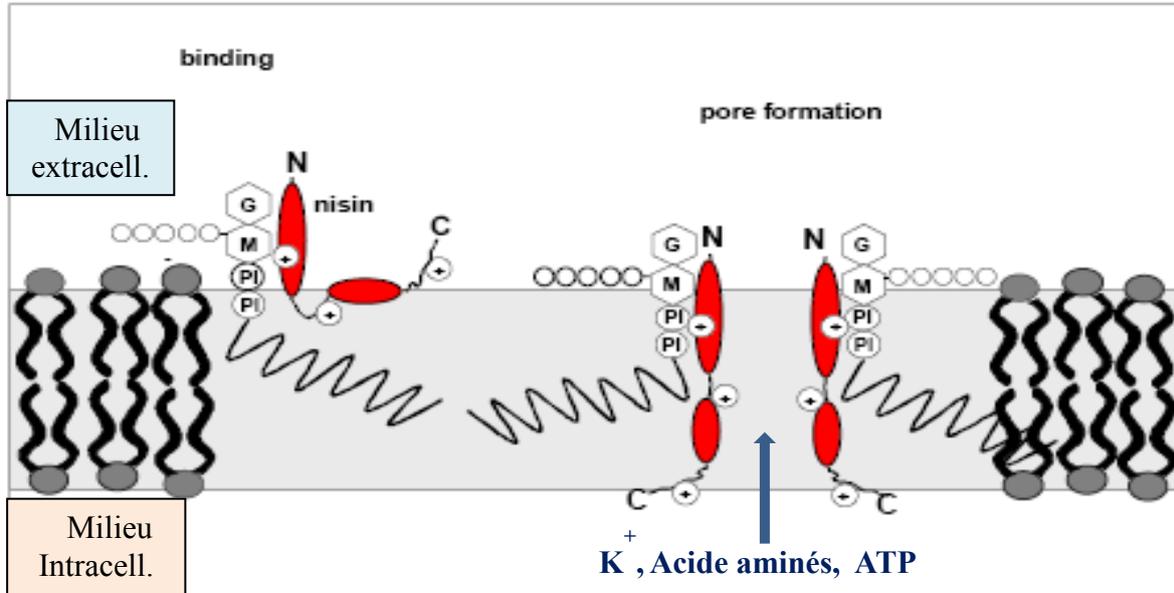


Figure 7: Schéma représentant le mode d'action de la nisine. (Wiedemann et *al.*, 2001)

2.5.2. Classe II

C'est le groupe des bactériocines dites non lantibiotiques. Elles ont diverses caractéristiques chimiques et génétiques et sont synthétisées par voie ribosomiale sous forme de prépeptides inactifs puis modifiés par un clivage post-transcriptionnel du « peptide leader » pour libérer des peptides cationiques actifs, amphiphiles et thermostables Ghalfi, (2008). La classification des bactériocines, et, en particulier celles de la classe II, a toujours été problématique. Selon la classification de Klaenhammer (1993), les bactériocines de la classe II sont les peptides qui contiennent le groupement thiol tandis que selon Nes et *al.* (1996), les bactériocines de cette classe dépendent de la voie de sécrétion générale pour qu'elles soient transportées à l'extérieur de la cellule. Une nouvelle classification proposée par Van Belkum et Stiles (2000) classe les bactériocines en fonction du nombre de résidus cystéine et pas en fonction de leur mode d'excrétion de la cellule.

2.5.3. Classe III

Ce groupe comprend les peptides de haut poids moléculaire (supérieur à 30 kDa) qui se caractérisent par leur faible thermorésistance. Ils sont, en effet, détruits par un chauffage à 60°C pendant 10 à 15 min. Ils sont produits principalement par des souches de lactobacilles homofermentaires (Dortu et *al.*, 2008 ; Kouakou et *al.*, 2010). Le spectre d'action de ce type de bactériocines est limité aux souches phylogénétiquement proches. Il existe très peu d'informations sur leur mode d'action et leurs propriétés biochimiques.

2.5.4. Classe IV

La classe IV comprend les bactériocines comportant dans leur structure des chaînes lipidiques ou glucidiques qui sont associés à une partie protéique (Klaenhammer, 1993). De façon biochimique, elles n'ont pas encore été formellement caractérisées. L'existence de cette classe de bactériocines repose sur leur sensibilité aux enzymes lipolytiques, protéolytiques et glycolytiques (Jimenez-Diaz et *al.*, 1993). On rencontre dans ce groupe, la plantaricine S, la leuconocine 5 et la lacticine 27.

2.6. La production des bactériocines

Les bactériocines sont généralement produites à la fin de la phase exponentielle et au début de la phase stationnaire de croissance (Dortu et *al.*, 2009). Elles peuvent ensuite être dégradées par les protéases produites par la bactérie lactique productrice (Savijoki et *al.*, 2006) ou être adsorbées à sa surface, ce qui mène à la baisse de la concentration de bactériocines dans la culture. Les facteurs influençant la production de bactériocines sont principalement la souche productrice, la température, le pH, la composition du milieu et la technologie de fermentation employée. Dans le cas de la production de sakacine par *L. sakei*, Moretro et *al.* (2000) ont montré qu'une même bactériocine peut être produite par des souches ou espèces différentes dont la capacité de production peut être variable.

Les conditions de culture influencent fortement la production de bactériocines. En effet, l'optimisation de la croissance ne résulte pas nécessairement en l'optimisation de la production de bactériocines (Parente et *al.*, 1999). Selon Verluyten et *al.* (2004), des conditions de croissance défavorables permettent de stimuler leur production. Les températures et pH optimaux de production sont souvent inférieurs à ceux optimaux de croissance. C'est par exemple le cas pour la production de bactériocine par *Leuconostoc mesenteroides* L124 (Mataragas et *al.*, 2003), par *L. amylovorus* DCE471 (De Vuyst et *al.*, 1996). La composition du milieu, tout particulièrement les sources et concentrations de carbone et azote, affectent fortement la production de bactériocines. Les bactéries lactiques productrices requièrent de nombreux nutriments pour leur croissance et des milieux riches contenant de l'extrait de viande, de levure et des hydrolysats de protéines sont nécessaires. Aasen et *al.*, (2000) et Mataragas et *al.*, (2004) ont montré que l'augmentation des concentrations en extrait de levure, extrait de viande ou peptone peut permettre une augmentation de la production de bactériocines. D'autre part, quelques études ont montré que

la source de carbone utilisée et sa concentration est un facteur important dans l'optimisation de la production de bactériocines (Leroy et *al.*, 2006; Chen et *al.*, 2007).

En plus de l'utilisation des différents nutriments la technique de culture joue également un rôle essentiel dans la production de bactériocine. L'ajout de nutriments lors d'une culture *fed-batch* permet souvent d'augmenter la production comparativement à une culture en *batch* (Pèrez et Guerra, 2005). Présentement, seule la nisine, une bactériocine produite par *Lactococcus lactis subsp. lactis*, est utilisée commercialement (Ross et *al.*, 2002). Celle-ci a été officiellement reconnue comme agent de conservation (fromage et aliments en conserve) par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis en 1988. Depuis ce temps, plus de 45 pays ont approuvé cette molécule comme agent de conservation. Ceci fait de la nisine, la bactériocine la plus utilisée à travers le monde (Ross et *al.* 2002).

2.7. La nisine

2.7.1. Définition

La nisine est un agent antimicrobien produit par quelques souches de *Lc. lactis* sp. Elle appartient au groupe des bactériocines définies par Tagg et *al.* (1976) comme des composés protéiques ayant une activité inhibitrice contre des souches phylogénétiquement proches de la souche productrice. De nombreuses bactériocines répondent à cette définition mais selon Klaenhammer, (1993), certaines d'entre elles présentent un spectre d'activité plus large s'étendant à des souches plus éloignées. La nisine fut découverte par Rogers (1925) lorsqu'il s'aperçut qu'un métabolite produit par *Streptococcus lactis* (*Lc. lactis* dans la nouvelle nomenclature) possédait une activité inhibitrice contre d'autres bactéries lactiques.

2.7.2. Structure et propriétés physico-chimiques

La nisine est un peptide de 3488 Da constitué de 34 acides aminés. Les molécules de nisine peuvent s'assembler en dimères ou oligomères de 7000 à 14000 Da (Klaenhammer, 1993) via des réactions intermoléculaires. La conformation en anneaux des lanthionines assurerait la rigidité du peptide, diminuerait sa sensibilité à la protéolyse et augmenterait sa résistance à la chaleur (Mc Auliffe et *al.*, 2001).

Mulders et *al.* (1991) ont isolé un variant naturel de la nisine A, la nisine Z, qui diffère par un acide aminé en position 27. La spécificité de l'activité antimicrobienne des deux variants est identique. Cependant, des tests d'activité menés par la technique de diffusion en gélose et des

concentrations en bactériocines supérieures à 0.1 µg/ml ont montré que la nisine A donnait des zones d'inhibition d'un diamètre inférieur à celles de la nisine Z à concentrations identiques (de Vos et *al.*, 1993). Cette différence s'explique par une meilleure diffusion de la nisine Z dans l'agar (de Vos et *al.*, 1993).

2.7.3. Biosynthèse

Trois classes de transposons d'une taille de 70 kb contenant les gènes responsables de la synthèse de nisine ont été identifiés chez *Lc. lactis* sp (Rauch et *al.*, 1994). Les classes I et II regroupent les transposons conjugatifs portant respectivement les gènes *nisA* et *nisZ* codant pour le prépeptide de la nisine A et Z. Les membres de la classe III contiennent le gène *nisZ* et sont non conjugatifs (Ghalfi, 2006).

La production de nisine évolue en fonction de la phase de croissance. Elle débute au milieu de la phase exponentielle pour atteindre un maximum de la fin de cette phase de croissance au début de la phase stationnaire (Mc Auliffe et *al.*, 2001 ; Kleerebezem et *al.*, 2001). La régulation se fait au niveau de la transcription par un système de type « quorum sensing » (Kleerebezem, 2004). La production de bactériocine est également influencée par les facteurs environnementaux, notamment le pH et l'aération du milieu de culture. Pour d'autres souches productrices de nisine, différents auteurs ont mis en évidence une augmentation du titre en bactériocine pour des cultures effectuées sans contrôle de pH ou dans des milieux non tamponnés (Cabo et *al.*, 2001 ; Guerra et *al.*, 2003).

2.7.4. Spectre d'activité et modes d'action

Dans des conditions normales, les bactériocines produites par des bactéries Gram positif n'ont pas d'effet bactéricide sur des espèces Gram négatif. Cependant, la nisine présente une activité inhibitrice contre des souches de *Helicobacter pylori* et *Neisseria* (Mota-Meira et *al.*, 2000) et de *Salmonella* en présence d'EDTA (Stevens et *al.*, 1991).

Une étude de Reisinger et *al.* (1980) révèle qu'un autre mode d'action de la nisine est l'inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire. Cette inhibition résulterait de la formation d'un complexe entre le précurseur lipidique membranaire du peptidoglycane, le lipide II, et les molécules de nisine. Le lipide II est également la seule cible spécifique de la nisine pour la formation de pores (Mc Auliffe et Hill., 2001). Cette association engendrerait des pores

stables et uniformes composés de 8 molécules de nisine et 4 de lipides II selon un nouveau modèle proposé par Hasper et al. (2004).

2.8. Croissance de *Lactococcus lactis* sp

La croissance des bactéries lactiques comme celle de tous les micro-organismes peut être considérée comme un ensemble de réactions biochimiques, en chaîne, conduisant à la synthèse des constituants à partir des éléments nutritifs du milieu. La courbe de cette croissance peut être subdivisée en six périodes distinctes incluant la phase de latence, la phase de d'accélération, la phase de croissance exponentielle, la phase de ralentissement, la phase stationnaire et la phase de déclin (Thonart, 2005)

La phase de latence est la période d'adaptation des cellules au substrat présent dans le milieu. Aucune division cellulaire n'est observée. La durée de cette phase dépend de la cellule, de la nature du milieu de culture et de la taille de l'inoculum.

La phase d'accélération correspond au démarrage de la croissance et à une augmentation de la vitesse spécifique de croissance.

La phase de croissance exponentielle est la période pendant laquelle, la vitesse spécifique de croissance atteint son maximum et demeure constant. Au cours de cette phase, la composition et la physiologie des cellules restent inchangées. En outre, c'est pendant cette phase que la cellule synthétise certaines enzymes et d'autres produits associés au métabolisme primaire.

La phase de ralentissement correspond à une diminution de la vitesse de division cellulaire suite à un épuisement du milieu de culture d'une part et d'autre part à une accumulation de produits inhibiteurs provenant du métabolisme microbien.

Pendant la phase stationnaire, le nombre de la population microbienne atteint son niveau maximal. La croissance cellulaire s'arrête mais la cellule conserve une bonne activité métabolique.

La Phase de déclin correspond à une autolyse des cellules végétatives par l'action des enzymes cellulaires entraînant la diminution du nombre de cellules vivantes.

2.9. Domaine d'application des bactéries lactiques

Dans le souci de garantir la salubrité et l'innocuité des denrées alimentaires, les industries agro-alimentaires développent sans cesse des moyens physiques et chimiques pour lutter contre les microorganismes d'altération de la qualité marchande et hygiénique des produits destinés à la consommation. Toutefois, force est de constater qu'en dépit de tous ces efforts consentis, le problème de la sécurité alimentaire demeure. En effet, de nouveaux germes

pathogènes, spécialement de nouveaux psychrotrophes, regroupant *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157 : H7 et *Listeria monocytogenes* (Barakat et Harris, 1999 ; Favrin et al.; 2001) ne cessent d'émerger. Ils sont susceptibles de s'adapter aux basses températures et de se multiplier pour contaminer les produits alimentaires durant les périodes de conservation.

Pour lutter contre ces nouveaux contaminants et répondre en même temps à l'attente du consommateur, qui exige plus de produits naturels sains, dépourvus de conservateurs chimiques (Leroy et al. 2001), les industries agro-alimentaires s'orientent vers des traitements de stabilisation dont le but majeur est de préserver la qualité nutritionnelle et organoleptique des aliments tout en réduisant de façon considérable le développement des microorganismes indésirables.

Cependant, il convient à priori de noter que la production de ces conservateurs biologiques, est souvent limitée par les conditions physico-chimiques mais surtout par la composition du milieu de culture (des souches productrices) en certains nutriments tels que les acides aminés et les sucres. Alors, pour une meilleure conservation des denrées alimentaires, il est donc nécessaire voire primordial d'effectuer des études qui pourront conduire à la détermination d'un milieu plus favorable à la production de ces substances antimicrobiennes.

2.10. Application dans le secteur de l'industrie agro-alimentaire

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques ont fait l'objet d'une attention particulière, du fait des potentialités qu'elles présentent quant à leur application comme alternative nouvelle de protection des produits alimentaires et ceci, dans le souci de répondre à l'attente des consommateurs qui exigent de plus en plus des aliments sains (Papagianni, 2003). Selon Stiles (1996), l'utilisation de ces conservateurs naturels que sont les bactériocines dans l'aliment, peut se faire par deux voies. Soit par addition de culture pure de bactéries lactiques productrices de ces substances antimicrobiennes soit par ajout direct de la bactériocine dans l'aliment. La substance naturelle antimicrobienne la plus connue et la seule autorisée dans plusieurs aliments est la nisine (Papagianni, 2003). La nisine est aujourd'hui (Makhloufi, 2011), la seule bactériocine légalement approuvée comme additif alimentaire (additif numéro E234) dans 80 pays. Elle a été évaluée comme sans danger pour l'Homme par l'organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (ONUAA) et l'Organisation Mondiale pour la Santé publique (OMS) en 1969 ainsi que par les autorités sanitaires Européennes en 1983. La nisine est commercialisée sous une forme semi-purifiée à

l'état lyophilisé sous le nom de **Nisaplin™** (Danisco, France) (Figure 8) et de **Chrisin™** (Christen Hansen, Danemark) (Guinane *et al.*, 2005).



Figure 8: Nisaplin™. (Makhloufi, 2011)

Elle demeure jusqu'à présent l'unique bactériocine dont l'application dans les aliments est légalisée par la FDA (Food and Drug administration). Produite par *Lactococcus lactis*, la nisine a été principalement utilisée dans la fabrication du fromage, pour lutter contre *Listeria monocytogenes*, pathogène redoutable susceptible de croître à des températures de réfrigération et aux conditions acides de fabrication des fromages. L'activité de cette bactériocine vis-à-vis de ce même pathogène a été confirmée par les travaux de Ferreira et Lund (1996).

D'autres travaux ont permis de mettre en évidence l'efficacité de la nisine dans une grande gamme de produits alimentaires incluant, les produits laitiers, les conserves, les œufs, la bière, le vin, le poisson et la viande (Papagianni *et al.* 2003). Le Tableau III met en exergue l'utilisation de cette bactériocine dans différents pays.

Tableau III : Exemple d'utilisation de la nisine dans le monde (Cleveland et *al.* 2001).

PAYS	DOMAINES D'UTILISATION	TAUX MAXIMUM. IU/g
Argentine	Fabrication de fromage	500
Australie	Fabrication de fromage	Pas de limite
Belgique	Fromage	100
Chypre	Fromage, produits végétaux	Pas de limite
EU	Conservateur naturel	Variable
France	Fabrication de fromage	Pas de limite
Italie	Fromage	500
Mexique	Additif	500
Pérou	Additif	Pas de limite
Russie	Produits végétaux	8000
Angleterre	Fromage, Conserves	Pas de limite
Etat-Unis	Fabrication de fromage	10000

2.11. Propriétés des bactériocines pour une application alimentaire

Les bactériocines sont habituellement reconnues comme sûres. Elles sont sensibles aux protéases digestives et ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes (Wijaya et *al.*, 2006). Elles ont une grande tolérance aux variations de pH et aux traitements thermiques. Leur spectre antimicrobien peut être large ou étroit, elles peuvent donc cibler sélectivement des bactéries pathogènes ou altérantes sans inhiber les bactéries indispensables et ont un mode d'action bactéricide (Galvez et *al.*, 2007). De l'avis de Deegan et *al.* (2006), les bactériocines doivent cependant être considérées comme un moyen de préservation complémentaire à ceux déjà existant.

2.12. Application alimentaire

Les bactéries sont employées en industrie agro-alimentaire pour aider à la fois à la fabrication et à la conservation des produits à partir de matières premières telles que : le lait, la viande, le poisson, les végétaux et les céréales.

Selon Bigret (1994), ces microorganismes, vu leur pouvoir acidifiant, leur capacité à produire l'arôme et leur aptitude à agir sur la texture des aliments, occupe une place de choix dans le développement des propriétés organoleptiques. Dans les produits laitiers, elles permettent: l'acidification pour provoquer la coagulation du lait, la formation des composés aromatiques assurant aux produits leurs qualités organoleptiques, la protéolyse pour donner aux fromages

leurs caractères rhéologiques et organoleptiques et la production d'agents épaississants pour améliorer la texture du fromage.

Par ailleurs, pour optimiser les caractéristiques organoleptiques du lait, les bactéries lactiques sont souvent utilisées en association. C'est le cas de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* dans la fabrication du yaourt.

Dans les produits carnés, les bactéries lactiques permettent l'augmentation de la qualité de fermentation. Elles favorisent en outre, l'accélération du processus de maturation et une meilleure conservation de ces denrées alimentaires.

Cependant, il convient de noter que, l'application de la nisine dans la viande n'a pas été un succès à cause de son pH élevé, de sa distribution non homogène, de son instabilité et surtout de son interférence avec les composants de la viande notamment les phospholipides (De Vuyst et Vandamme, 1994). Dès lors, l'application d'autres bactériocines a été envisagée. En effet, des études ont montré que, l'entérocin est susceptible de contrôler de façon remarquable la croissance de *Listeria monocytogenes* dans la viande de poule, de porc et dans du jambon (Garneau et al. 2002). Dans la viande de porc hachée, la sakacine a été testée pour inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes*.

Certains auteurs, notamment Morgan et al. (1999) et Scannel et al. (2000) ont utilisé cette entérocin dans les saucisses fraîches de porc et dans certains matériaux d'emballage. Les résultats les plus remarquables de l'application des bactériocines dans la viande, ont été obtenus avec la pédiocine PA-1. Produit par *Pediococcus acidilactici*, la pédiocine PA-1 selon Nielson (1990), réduit de façon significative le nombre de microorganismes sensibles. Utilisée seule ou en combinaison avec le diacétate, la pédiocine PA-1 est active contre certains pathogènes tel que *Listeria*. Les études menées par Gofl et al. (1999) ont prouvé que cette bactériocine inhibe de façon significative la croissance de ce pathogène dans la viande de poulet.

Les bactéries lactiques sont utilisées dans plusieurs secteurs d'activités. En effet, elles présentent d'importantes fonctions dans le domaine de l'agriculture, de l'amélioration de la santé (humaine et animale) et dans l'industrie agro-alimentaire. En agriculture, les bactéries lactiques sont utilisées pour l'ensilage de végétaux qui constituent un produit de conservation des fromages par fermentation acidifiante permettant de limiter ou d'inhiber certaines voies métaboliques indésirables notamment l'acétogénèse et la protéolyse. La fermentation permet en outre, d'améliorer la qualité nutritive de la matière première. On a pu noter grâce à l'utilisation de bactériocine, un gain de poids de moutons (Henderson et al, 1987), une

augmentation du rendement de la production de lait et un meilleur rendement de conservation alimentaire chez le bétail (O'kiely, 1990).

2.13. Facteurs influençant l'activité des bactériocines dans les produits alimentaires

Lors d'une application alimentaire, la composition du produit est un des premiers facteurs pouvant réduire ou totalement dissiper l'activité de la bactériocine de par son adsorption sur des composantes du produit, la limitation de sa solubilité et de sa diffusion (Dortu, et *al.*, 2008). La bactériocine peut également être dégradée par des protéases, ou subir une interaction avec des additifs alimentaires ou des ingrédients.

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 (Galvez et *al.*, 2007). 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. En outre, dans les produits solides, les bactéries forment des micro colonies 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.

Ces phénomènes peuvent conduire à une absence totale d'activité antimicrobienne, une inhibition partielle des bactéries cibles ou une diminution initiale de la concentration des bactéries cibles sous la limite de détectabilité suivie d'une reprise de croissance au cours du stockage. Cela provoque un effet inacceptable sur l'état sanitaire et/ou sur les qualités organoleptiques des aliments (Schöbitz et *al.*, 2003 ; Kouakou et *al.*, 2008).

2.14. Les applications médicales des bactériocines

L'interférence bactérienne, qui fait référence à la capacité d'un microorganisme à protéger l'hôte contre certains pathogènes, est considérée par plusieurs chercheurs et organisations de santé publique comme une voie d'avenir pour réduire l'utilisation d'antibiotiques. L'émergence de la résistance aux antibiotiques conventionnels ces dernières années a orienté la recherche vers l'étude de nouveaux agents antimicrobiens. Les bactéries lactiques sont utilisées comme probiotiques c'est-à-dire des microorganismes vivants dont l'application à

l'homme ou à l'animal exerce un effet bénéfique sur celui-ci par amélioration de l'équilibre ou les propriétés de la flore intestinale. Ce sont les travaux de Metchnikoff (1908) qui ont mis en exergue chez l'homme les effets bénéfiques des Lactobacilles par la consommation de yaourt (Thonart, 1997). Le mode d'action des bactériocines qui diffèrent de ceux des antibiotiques conventionnels et l'innocuité des bactériocines permettraient leur utilisation comme alternative aux antibiotiques dans la prévention et/ ou le traitement des infections dues à des bactéries devenues résistantes aux traitements conventionnels (Dicks *et al.*, 2011). Ces bactéries permettent en effet, une prévention contre les infections intestinales et une amélioration de la digestion (Mogensen, 1994). D'après Salminen *et al.* (1998), les espèces fréquemment utilisées comme probiotiques sont *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaris*. Contrairement aux applications alimentaires des bactériocines, aucune des bactériocines n'est à ce jour commercialisée comme médicament. Cependant, quelques-unes d'entre elles sont en cours d'essais cliniques pour le traitement d'infections cutanées, respiratoires, systémiques et/ ou urogénitales (Hancock, 2000).

Selon les études réalisées par Mombelli *et al.* (2000), les bactéries lactiques sont utilisées pour le traitement de plusieurs infections incluant les diarrhées, le cancer du colon, les troubles immunitaires, les allergies alimentaires, l'intolérance au lactose et l'hypercholestérolémie. Les souches probiotiques *Lb. acidophilus* et *Lb. casei*, qu'on retrouve entre autres dans le lait fermenté, ont fait l'objet d'études montrant leur efficacité contre la diarrhée associée à la prise d'antibiotiques en milieu hospitalier (Kelleher *et al.*, 2002, Penner *et al.*, 2005). Des études ont montré l'action préventive des probiotiques lors de diarrhées infectieuses causées par un traitement antibiotique, par radiothérapie et après des rechutes de colite ulcéreuse (Plummer *et al.*, 2004, Reid *et al.*, 2003).

L'émergence de souches de *Staphylococcus aureus* multi-résistantes incluant une résistance à la méthicilline (SARM) pose depuis longtemps, un réel problème dans les traitements d'infections nosocomiales cutanées (Taylor *et al.*, 1992). La vancomycine est un antibiotique à usage strictement hospitalier considéré comme le seul traitement pour les infections aux SARM. Sass *et al.* (2008) ont montré que la mersacidine est un antibiotique produit par *Bacillus* sp., actif contre de nombreuses bactéries pathogènes telles *Listeria*, *Staphylococcus* ou *Streptococcus* dont les SARM (2008). Injectée par voie intra-nasale chez des souris infectées par des SARM, la mersacidine est active à des concentrations de 1,5 et 10 mg/l contre les SARM, la CMI étant égale à 1 mg/l (Kruszewska *et al.*, 2004).

Chez les individus atteints d'une inflammation des gencives (gingivite), selon Farge (1998), la plaque dentaire est souvent générée par un biofilm principalement formé de bactéries du genre *Staphylococcus* ou *Streptococcus*. Des tests *in vivo* réalisés chez les chiens ont montré l'efficacité des antibiotiques, comme la nisine, dans la prévention de formation de plaques dentaires et d'apparition de gingivites (Howell et *al.*, 1993). Depuis lors, la nisine a été introduite dans des bains de bouche. BLIS K12™ (Bacteriocin Like Inhibitory Substances K12™) (figure 9), est un produit commercial contenant des souches de *Streptococcus salivarius* qui produisent deux bactériocines, la salivaricine A2 et B actives contre des bactéries responsables de la mauvaise haleine (Tagg, 2004; Makhloufi, 2011).



Figure 9: BLIS K12™ .

(http://www.shopnewzealand.co.nz/en/cp/BLIS_Throat_Guard).

2.15. Propriétés de la fixation de la nisine

Les chercheurs qui ont étudié la fixation de la nisine ont montré que celle-ci se fixe de préférence sur les membranes contenant des lipides anioniques (lipide II). Au-delà de 40 % de lipides anioniques, la quantité de nisine attachée augmente considérablement. En général, les bactéries de type Gram positif ont des concentrations plus élevées en lipides anioniques dans leur membrane cytoplasmique (O'Leary et *al.*, 1988). Ceci peut en partie expliquer l'activité plus élevée de la nisine contre ces bactéries (Breukink et *al.*, 1997). Cependant, certains travaux montrent qu'aucune formation de pores ne pourrait être détectée dans les membranes contenant des lipides négativement chargés (Kordel et *al.*, 1989 ; Garcera et *al.*, 1993 ; Driessen et *al.*, 1995). Des travaux ont montré que des changements sur la partie C-terminale de la nisine occasionnent de graves conséquences sur la fixation de la nisine. Par exemple, l'introduction d'un résidu négativement chargé dans la partie C- terminale (au niveau de la position 32) de la nisine rend la molécule incapable de se fixer sur une membrane contenant des lipides anioniques (Breukink et *al.*, 1997). La partie N-terminale de la nisine montre peu d'affinité vis-à-vis de la membrane comparée à la partie C-terminale (Giffard et *al.*, 1997). Les changements sur la partie N-terminale ont eu uniquement des faibles effets sur la fixation de la nisine. Même la perte d'une charge positive par le remplacement de la lysine-12 par un

résidu de leucine n'influence pas l'interaction initiale de nisine avec la membrane (Giffard et *al.*, 1997). Ce résultat montre que la partie C-terminale joue un rôle important dans la fixation de la nisine à la membrane grâce à une interaction électrostatique. L'augmentation de la charge positive de la partie C-terminale permet d'augmenter l'affinité vis-à-vis la membrane mais pas une amélioration de l'activité de la nisine. En effet, le remplacement de la valine à la position 32 par la lysine n'augmente pas l'activité antibactérienne (Van Kraaij et *al.*, 1997).

Après la fixation, le caractère amphiphile de la nisine lui permet de s'insérer dans la phase lipidique de la membrane. Les travaux réalisés indiquent que principalement c'est la partie N-terminale de la nisine qui s'insère dans la phase lipidique de la membrane via des interactions hydrophobiques (Brasseur et *al.*, 1991). Les changements sur la partie C-terminale influencent très peu l'aptitude de la nisine à s'insérer dans la phase lipidique de la membrane (Breukink et *al.*, 1997 ; Van Kraaij et *al.*, 1998).

Cette étape est suivie par la formation de pores. C'est un processus coopératif, il est précédé et/ou accompagné par l'agrégation des peptides dans la membrane. La quantité de nisine fixée influence considérablement le nombre de pores formés (taille ≈ 1 nm). Les informations disponibles sur l'état des pores sont limitées (Benz et *al.*, 1991).

2.16. Mode d'action des bactériocines

L'inhibition des flores indésirables par les bactéries bioconservatrices peut être due à la compétition nutritionnelle lors de la croissance, à la présence de certains produits du métabolisme ou à la production de bactériocines (Helander et *al.*, 1997). La plupart des bactériocines sont bactéricides (Enan et *al.*, 1996) mais dans certains cas elles sont bactériostatiques (Lawus et *al.*, 1991). Le principal site d'action des bactériocines serait la membrane plasmique (Abee, 1995 ; Marcinet et *al.*, 1997). En effet, les bactériocines inhibent la croissance des organismes cibles par augmentation de la perméabilité de la membrane cytoplasmique. Sur la base de leur caractère amphiphile, cette perméabilisation se fait soit par formation de pores ou par déstabilisation de l'intégrité de la membrane (Montville et *al.*, 1995). Il s'ensuit alors une perte d'ions, d'acides aminés et d'ATP qui a pour conséquence la dissipation de la force proton motrice FMP (Sahl et *al.*, 1995).

Par ailleurs, l'action bactéricide ou bactériostatique des bactériocines semble être limitée uniquement aux bactéries Gram (+). Seules, elles sont incapables d'inhiber la croissance des bactéries Gram (-) car, la structure de la paroi de ces microorganismes empêchent leur pénétration dans la cellule pour accéder à leur site d'action porté par la membrane

cytoplasmique. Par ailleurs, La combinaison des bactériocines avec d'autres traitements de conservation chimique ou physique donne des résultats prometteurs pour la conservation des aliments (Carine *et al.*, 2009). Les molécules chimiques peuvent être des acides organiques, le nitrite, le chlorure de sodium, l'éthanol, des huiles essentielles (l'impact sur les propriétés organoleptiques doit être soigneusement évalué) ou des agents chélatants tel que l'EDTA, le phosphate trisodique, le citrate. Ces agents chélatants permettent de séquestrer les ions magnésium des lipopolysaccharides de la membrane externe des bactéries Gram- permettant aux bactériocines d'atteindre la membrane interne, siège de leur activité. Les traitements physiques peuvent être des traitements thermiques, le stockage sous atmosphère contrôlée, l'application de champs électriques ou l'application des hautes pressions (Rodgers, 2004 ; Deegan *et al.*, 2006 ; Galvez *et al.*, 2007). D'autre part, l'utilisation d'inhibiteurs de protéases ou de protéines de soja a été suggérée afin de prévenir la dégradation des bactériocines par les protéases présentes dans le produit à conserver (Kouakou *et al.*, 2008).

La nisine est la bactériocine dont le mode d'action a été le plus étudié. Selon Moll *et al.*, (1996), elle présente quatre type d'action dont la plus importante est la formation des pores sur la membrane plasmique des bactéries cibles. Au cours de son action, la nisine se lie d'abord à la membrane cytoplasmique par le biais d'interactions électrostatiques entre son extrémité C-terminale de charge positive et les groupements phospholipidiques de charge négative de la membrane cytoplasmique (Driessen *et al.*, 1995). Ces interactions dépendent en grande partie du type de lipides membranaires et de leur charge. La nature cationique de la nisine permet une fixation efficace avec les lipides anioniques (Breukink *et al.*, 1997). Une fois que la liaison est établie, la molécule de nisine s'insère et s'organise dans la membrane pour former des pores.

Il s'ensuit alors, selon McAuliffe *et al.* (2001) une inhibition du transport des acides aminés, la perte des composés intracellulaires de faible poids moléculaire et la dissipation totale de la force proton motrice FMP (Montville *et al.*, 1998). La dissipation de la force proton motrice entraîne alors la mort de la cellule suite à un arrêt des procédures cellulaires.

Les bactériocines de la classe I sont les plus prometteuses pour diverses applications industrielles vues leur activité biologique généralement plus élevée que celle des autres bactériocines (Cintas *et al.* 1997) mais surtout à cause de leurs propriétés physico-chimiques. On rencontre dans cette classe, la pédiocine PA-1, la sakacine A et P, la curvacine A, la leucocine, la mésentéricine, la bavaricine, l'acidocine, la carnobactériocine l'enterocine A, la munditicine, la divercine, etc. Elles constituent la famille des pediocines (Cintas *et al.* 2000). Ce sont des peptides de nature cationique, comportant entre 37 et 48 acides aminés, avec à

leur extrémité N-terminale une séquence leader ou un peptide signal composé de la tyrosine, de la glycine, de l'asparagine et de la valine tyr-gly-Asn-gly-val-tyr (Martinez et *al.* 1999). Ces peptides présentent entre 34 % et 80,5 % de similarité au niveau de leur séquence, hormis la leucocine A et la mésentericine Y105 qui sont fortement similaires. Elles présentent seulement une différence au niveau des positions 22 et 26 des acides aminés (Ennahar et *al.* 1999).

Ces peptides cationiques, selon Jack et *al.* (1995), ont un point isoélectrique (pHi) qui varie entre 8,5 et 10. En outre, on rencontre chez certaines des bactériocines de cette classe, plusieurs molécules de cystéines et des ponts disulfures qui semblent leur conférer une activité biologique plus intense. C'est le cas de la pédiocine PA-1 et l'entérocin A qui comportent deux ponts disulfures.

D'une façon générale, les bactériocines de cette classe, après maturation c'est-à-dire clivage de leur séquence leader sont particulièrement actives contre *Listeria monocytogenes* d'où leur nom de bactériocines antilisteria (Martinez et *al.* 2000). Par ailleurs, elles sont susceptibles de présenter des activités antibactériennes contre d'autres microorganismes tels que *Enterococcus sp*, *Micrococcus sp*, *Carnobacterium sp*, et *Staphylococcus ssp*. Les bactéries impliquées dans la synthèse de cette classe de bactériocines, sont rencontrées généralement dans les produits carnés, les produits laitiers et les légumes (Ennahar et *al.*, 2000). Elle regroupe les bactériocines à deux peptides. La synthèse de ces peptides est gouvernée par des gènes différents. Selon les travaux menés par McAuliffe et *al.* (2001), cette classe de bactériocines est divisible en deux sous-groupes, incluant les bactériocines de type E chez les lesquelles, l'un des deux peptides a pour rôle essentiel d'augmenter l'activité de l'autre comme les enterocines L50A et L50B (Cintas et *al.*, 1997) et les bactériocines de type S dont leur activité nécessite obligatoirement la présence des deux peptides, c'est le cas de la lactococcine G. Des travaux ont montré que les gènes qui codent pour les deux peptides de cette bactériocine (lactococcine G) sont portés par le même opéron possédant en outre le gène codant pour la protéine d'immunité et le transporteur ABC impliqué dans le transfert de cette bactériocine vers le milieu extracellulaire.

2.17. Défense des cellules contre leurs propres bactériocines

Des travaux ont montré que les bactéries lactiques possèdent un système d'auto-défense contre leurs propres bactériocines. Des investigations menées par certains auteurs notamment Ennahar et *al.* (2000), au niveau des bactériocines de la classe II ont permis de connaître la nature des molécules impliquées dans cette auto-défense. En effet, ce sont des substances

protéiques contenant 88 à 114 acides aminés. Selon Eijsink et *al.* (1998), elles seraient hydrophiles et chargées positivement.

2.18. Toxicité des bactériocines

Du fait de leur nature protéique, les bactériocines sont dégradables par les enzymes protéolytiques de l'appareil gastro-intestinal. A ce titre, elles sont non toxiques pour les hommes et pour les animaux. Ainsi, elles peuvent être ajoutées aux aliments pour augmenter leur durée de conservation (Banani et *al.* 2003). Des études toxicologiques réalisées sur la nisine, ont montré que cette bactériocine ne présente aucune activité nuisible pour le consommateur. En effet, prise de façon journalière à une dose de 2,9 mg, elle ne provoque aucune toxicité aiguë et chronique chez le consommateur (Cleveland et *al.* 2001).

D'autres auteurs ont aussi montré que la nisine est sensible à l'action protéolytique de la trypsine, à cet effet, elle ne peut avoir d'effet néfaste sur la microflore bénéfique du consommateur. L'innocuité d'autres bactériocines a été également testée. C'est le cas de la pédiocine qui a été administrée au rat et au lapin en vue de déterminer son caractère immunogène. Elle s'est révélée négative. (Cleveland et *al.* 2001).

2.19. Limites de la bioconservation par la bactériocine

L'application des bactériocines constitue certes une méthode « naturelle » de conservation des aliments, mais sa mise en œuvre n'est pas aisée. En effet, les nombreuses propriétés des bactériocines favorisant leur utilisation dans le domaine agroalimentaire et/ ou médical n'empêchent pas l'existence de contraintes relatives à leur utilisation (Makhloufi, 2011). La composition de l'aliment joue un rôle important dans l'action des bactériocines contre les cellules sensibles. Selon Abee et *al.* (1995), l'efficacité de ces substances antimicrobiennes dans l'aliment est influencée par un certain nombre de paramètres regroupant le pH, la composition lipidique, les enzymes protéolytiques, les constituants solides et liquides. Le produit alimentaire, de par sa composition chimique est susceptible de modifier la solubilité et la charge des bactériocines, entraînant par conséquent leur fixation sur des composés autre que les lipides membranaires des organismes cibles. Le coût élevé de préparations de bactériocines pures prêtes à l'emploi entraîne de loin la limite la plus importante (Makhloufi, 2011), d'où l'utilisation plus commune des souches productrices plutôt que des bactériocines isolées.

Egalement, les traitements appliqués aux produits constituent un deuxième facteur pouvant limiter l'effet antimicrobien de la bactériocine dans un produit alimentaire. En effet, des

traitements thermiques trop élevés peuvent dégrader les bactériocines bien que la majorité d'entre elles soient résistantes à la chaleur (Dortu *et al.*, 2009.). Le dernier facteur limitant l'activité des bactériocines est la présence de bactéries résistantes et de microorganismes qui dégradent les bactériocines par l'effet de protéases qu'elles produisent à l'état physiologique. De plus, dans les produits solides, les bactéries forment des biofilms dont la résistance aux bactériocines peut être plus élevée (Schöbitz *et al.*, 2003).

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX EXPERIMENTAUX

I. Contexte et justificatif des travaux.

Le Sénégal se situe à l'avancée la plus occidentale du continent africain dans l'Océan Atlantique entre 12°5 et 16°5 de latitude Nord et 11°5 et 17°5 de longitude Ouest. Il est limité au Nord par la Mauritanie; à l'Est par le Mali; au Sud par la Guinée et la Guinée Bissau; à l'Ouest par la Gambie, et par l'Océan Atlantique sur une façade de 700 km (www.africabusinessmarket.com/fichier/presentation.pdf). Il s'étend sur une superficie de 196 722 km² avec une population de 12.969.606 millions (estimation de Juillet 2011) soit une densité de 65 habitants/km² en 2011 (ANSD, 2012).

Selon la DPM (2004), les eaux sénégalaises, notamment celles qui bordent la presqu'île du Cap-Vert, sont très poissonneuses. Les populations qui vivent le long des côtes ont une très ancienne tradition des métiers de la mer. Aujourd'hui, on estime qu'il y a plus de 60 000 pêcheurs et 8 000 pirogues motorisées (DPM, 2004).

La plage de Ouakam, banlieue dakaroise, très représentative de la pêche artisanale au Sénégal, a servi de cadre à cette étude.

Au plan économique, le produit intérieur brut (PIB) s'élevait à 6.367 milliards de CFA, soit un PIB par tête d'habitant de 509.096 CFA en 2010. Pour la même année, le taux de croissance économique s'est établi à 4,1% après 2,2% en 2009, 3,2% en 2008 et 4,9% en 2007 (ANSD, 2012).

Comparé à certains pays africains, le Sénégal est très pauvre en ressources naturelles. Ses principales recettes proviennent de la pêche et du tourisme. Plusieurs facteurs d'ordre écologique et socioéconomique ont été particulièrement favorables au développement de la pêche artisanale qui occupe aujourd'hui une place privilégiée dans les stratégies nationales de développement, notamment la Stratégie nationale de Développement économique et social (SNDES) pour la période 2013–2017. L'exploitation des ressources halieutiques dans les eaux sénégalaises est le fait de pêcheries artisanales (maritime et continentale), semi-industrielle et industrielle. La principale caractéristique du système d'exploitation est la prédominance, en termes de débarquement, du sous-secteur artisanal qui est à l'origine des deux tiers des mises à terre (DPM, 2012).

La pêche est toutefois confrontée ces dernières années à une crise aigüe liée à une dégradation et une surexploitation des ressources halieutiques et à une surcapacité de capture et de traitement à terre.

Les bactéries du poisson capturé entreront dans la phase de croissance exponentielle presque immédiatement après la mort du poisson en cas de défaillance dans la conservation. Ce

phénomène entraîne très souvent une altération du poisson débarqué d'où une baisse de la valeur marchande des captures.

La conséquence de cette situation est la baisse des revenus des acteurs du secteur, une chute de l'emploi et une baisse de la contribution économique et financière du secteur.

Ainsi, cette étude porte sur les liens existant entre les activités liées à la pêche artisanale et sa contribution économique et sociale à l'économie nationale. Elle contribue, même partiellement, à l'amélioration des conditions pratiques d'hygiène et de manutention chez les pêcheurs artisanaux et de susciter davantage un intérêt accru à l'égard de cette pêche de la part des décideurs et des partenaires au développement engagés dans les programmes de lutte contre la pauvreté.

L'étude a porté sur trois espèces de fonds : la sole limande (*Syacium guineensis*), le mérrou à points bleus (*Cephalopholis taeniops*) et le rouget (*Pseudupeneus prayensis*)(tableau IV).

La sole est rencontrée dans les fonds sableux entre 10 et 110 m de profondeur. Elle peut vivre jusqu'à 200 m de profondeur au large. Son identification est facilitée par la forme ovale de son corps, et sa tête arrondie (Bellemans et *al.*, 1988).

Le Mérrou vit dans les fonds rocheux accidentés où il peut s'abriter dans une cavité ou une grotte. Il a un corps massif et une tête volumineuse avec une large mâchoire inférieure qui dépasse sur l'avant la mâchoire supérieure (Bellemans et *al.*, 1988).

Le Rouget vit sur les fonds de sable et de sédiment jusqu'à 75 m de profondeur. Sa tête est un peu voutée. Son corps est parcouru, de chaque côté et de la tête à la queue, par des traits dorés. Il se nourrit d'invertébrés benthiques détectés grâce à ses barbillons (Bellemans et *al.*, 1988).

II. Matériel et Méthodes

Cette partie décrit l'ensemble des techniques et méthodes utilisées pour la réalisation des travaux. La première partie aborde la méthodologie mise en place pour la description des différentes espèces de poisson de fonds utilisées, les techniques d'échantillonnage du poisson adoptées, à la capture, au débarquement et à l'entrée en usine, et les méthodes d'analyses utilisées pour déterminer la qualité physico-chimique et bactériologique du poisson.

La deuxième partie présente les techniques de culture de la souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410, la préparation et l'application des surnageants de culture au filet. Enfin, la

troisième partie est consacrée à la présentation de la méthode d'analyse statistique utilisée pour l'exploitation des résultats.

1. Etude de la qualité générale du poisson de la capture à l'entrée en usine

Le poisson, comme toute denrée alimentaire, présente une qualité variable. Même si les raisons en sont multiples, il est possible de les classer en deux ensembles; l'influence du milieu naturel de vie du poisson et celle de l'intervention de l'homme.

Cette partie du travail a pour but d'appréhender l'importance relative de ces deux niveaux et d'en quantifier l'effet résultant sur la qualité du poisson de la capture du poisson à l'arrivée chez l'industriel.

1.1. Démarche méthodologique

L'ensemble du matériel de prélèvement est préalablement stérilisé avec du coton imbibé d'alcool à 90°C. Les travaux ont porté principalement sur des analyses sensorielles (analyses organoleptiques), des analyses chimiques (dosage de l'ABVT) et des analyses microbiologiques. Les analyses microbiologiques, les échantillons prélevés ont été évalués en recherchant par des méthodes standards les paramètres microbiologiques de qualité. Il s'agit de la flore mésophile totale à 30 °C (germes totaux ; NF V08-051), des coliformes totaux, des coliformes thermotolérants et des Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*) à 37°C (NF EN ISO 6888-1), des Salmonelles (NF V 08 - 052), des spores d'Anaérobies Sulfito-réducteurs (NF V 08-061) et des streptocoques fécaux.

1.1.1. Échantillonnage

Les échantillons ont été prélevés en amont de la transformation à l'usine en trois périodes différentes correspondant chacune à un des trois niveaux de la filière : capture en mer, débarquement et entrée en usine. Chaque échantillon est constitué de cinq (5) unités de poisson.

Les prélèvements à la capture, dont l'objectif était de connaître le taux de flore initial dans le poisson, ont été effectués au large de la plage avec l'aide d'un piroguier. Immédiatement après la capture, le poisson est placé dans un emballage stérile puis conservé au frais dans une glacière.

Les prélèvements au débarquement ont été effectués stérilement et dans les conditions habituelles de travail des pêcheurs à partir, soit du fond de la pirogue, soit des caisses de polystyrène contenant initialement de la glace.

Les prélèvements à l'entrée en usine ont été faits au hasard avant lavage de la matière première. Pour éviter des changements dans les conditions habituelles de travail, les manutentionnaires et les mareyeurs chargés de fournir le poisson n'ont pas été avisés.

1.1.2. Analyses physico-chimiques

L'analyse sensorielle selon le schéma de notation de la directive européenne 2046/96 est le moyen le plus utilisé par le secteur des produits de la mer et les services d'inspections pour évaluer la fraîcheur et la qualité des poissons et produits de la pêche (tableau IV). L'évaluation sensorielle est une estimation systématique de l'odeur, de la saveur, de l'aspect et de la texture des aliments.

Des notes de 0 à 1 ; 0 à 2 ; ou 0 à 3 points (index) sont attribuées en fonction des changements se produisant au niveau de l'odeur, de la texture, de l'aspect des yeux, de la peau et des branchies. Les points ainsi attribués sont additionnés pour donner une note sensorielle globale appelée QI (Quality Index).

Tableau IV : Evaluation de la fraîcheur du poisson selon la méthode de l'union européenne (règlement 33/89)

$m \leq 1,5$	TRES BONNE QUALITE
$1,5 < m \leq 2$	BONNE QUALITE
$2 < m \leq 2,5$	ASSEZ BONNE QUALITE
$2,5 < m \leq 3$	QUALITE ACCEPTABLE
$3 < m \leq 3,5$	QUALITE MEDIOCRE
$3,5 < m \leq 4$	QUALITE TRES MEDIOCRE (tests de cuisson à faire)
$m > 4$	QUALITE INACCEPTABLE (tests de cuisson à faire)

Pour minimiser la subjectivité, l'évaluation sensorielle a été complétée par des analyses chimique (dosage de l'acide basique volatil total/ABVT) et bactériologique (dénombrement de la flore mésophile aérobie totale : coliformes fécaux et totaux, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et streptocoques fécaux).

Plusieurs méthodes analytiques ont été développées pour mesurer l'ABVT : la distillation à vapeur (Malle and Poumeyrol 1989), la microdiffusion Conway et titration (Conway 1947), une méthode colorimétrique, la photométrie (Zhi, Rios et al. 1995). Celle utilisée dans ce travail est la méthode de distillation à la vapeur proposée par Malle et *al.* Parce qu'étant plus accessible.

Le dosage de l'ABVT a été effectué sur la chair du poisson. Il détermine la teneur totale en azote des bases azotées volatiles résultant de la dégradation des composés azotés du poisson. Il a été effectué après défécation de la prise d'essai par l'acide trichloracétique. La prise d'essai a été distillée à la vapeur puis recueillie et neutralisée par une solution d'acide chlorhydrique à 0,1N. La teneur en ABVT a été estimée en mg de NH₃/100gr de chair

1.1.3. Examens microbiologiques

L'examen microbiologique est un outil incontournable d'évaluation du niveau de contamination des denrées alimentaires et de la nature de leur microflore. Il est très largement utilisé dans le cadre du contrôle officiel ainsi que des autocontrôles mis en œuvre par les industriels pour garantir la salubrité des denrées qu'ils commercialisent. La mise en place progressive des principes de l'assurance sécurité dans l'ensemble de l'industrie agro-alimentaire conduit cependant à s'interroger sur l'intérêt réel des examens microbiologiques de denrées (Bornert 1998). Ainsi Il s'avère nécessaire de prendre en compte les principes techniques de tels examens et les limites de leur emploi, pour optimiser leur utilisation dans ce contexte et parvenir à garantir la protection de la santé du consommateur.

Les examens microbiologiques sont réalisés à partir d'échantillons, prélevés, transportés et conservés dans des conditions adaptées pour ne pas modifier leur microflore. D'un point de vue général, le recours à la microbiologie suppose d'être en mesure *in fine* d'interpréter les résultats d'examens. C'est dans ce cadre qu'a été posée la question préalable de l'échantillonnage.

1.1.3.1. Techniques utilisées en microbiologie des aliments

Les techniques classiques de la microbiologie utilisées reposent sur la mise en culture d'un inoculum dans un milieu spécifique. La composition du milieu, la température d'incubation et la nature de l'atmosphère dans laquelle est incubé le milieu, permettent de créer une pression de sélection et de cultiver sélectivement une population bactérienne.

Ces méthodes servent de référence et font l'objet d'une normalisation au niveau international.

Dans le cas des techniques de dénombrement, 25 g de chaque échantillon ont été prélevés et broyés de manière aseptique. 225 ml d'eau peptonnée tamponnée ont été ajoutés à la prise d'essai et le mélange est homogénéisé au stomacher. A partir de cette suspension-mère des dilutions décimales successives ont été effectuées et un inoculum de chaque dilution a été utilisé pour ensemercer un milieu, liquide ou solide (figure 10). Après incubation, il est procédé au comptage des colonies d'aspect caractéristique et à une éventuelle confirmation par des tests biochimiques.

Dans le cas des techniques de recherche, telles que celle utilisée pour les salmonelles, un ensemble d'étapes de préenrichissement et d'enrichissement permettent d'assurer la revivification des bactéries stressées (Ray, 1993) puis de favoriser leur croissance de façon sélective. Il est ensuite réalisé un isolement sélectif et une caractérisation biochimique à partir des colonies d'aspect caractéristique.

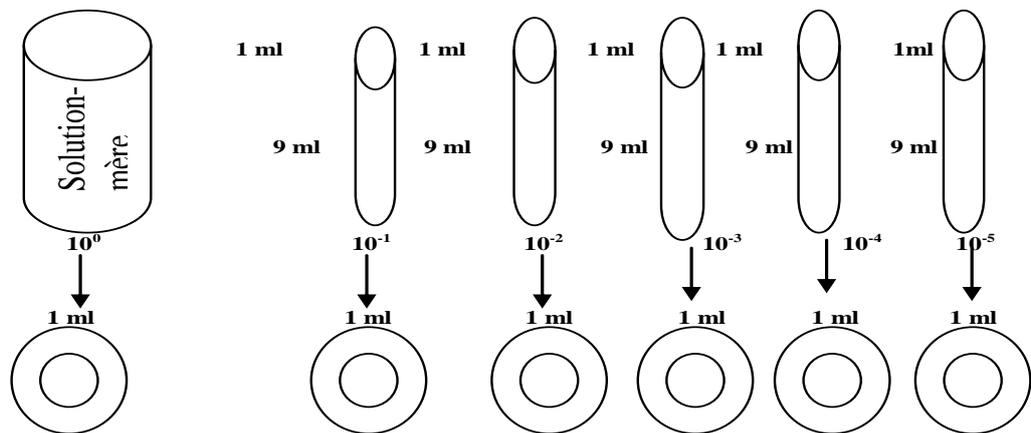


Figure 10: Techniques de dilutions et d'ensemencement

1.1.3.2. Flores recherchées

Les flores recherchées dans ce travail sont d'une part les bactéries pathogènes pour l'homme, agents de toxi-infections alimentaires collectives : les salmonelles, *Staphylococcus aureus*, les bactéries anaérobies sulfito-réductrices et d'autres part les micro-organismes agents d'altérations comme la flore aérobie revivifiable à +30°C, et les micro-organismes indicateurs de contamination fécale utilisés en pratique courante tels que sont les entérocoques, les coliformes thermotolérants.

- **Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale**

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) est un indicateur sanitaire important. Elle permet de connaître le degré de pollution des matières premières et du produit fini par les microorganismes. Elle reflète la qualité hygiénique générale d'un aliment.

Le dénombrement de la flore aérobie totale est réalisé sur milieu solide PCA (plate count agar) et l'ensemencement se fait dans la masse du milieu en surfusion à la température de 30°C pendant 48 heures. Le milieu solide le PCA est composé de : Glucose, Extrait de levure, de peptone et d'agar.

Pour ensemercer les boîtes de pétri, on prend une nouvelle pipette et à partir de la dernière dilution, on prélève 1 ml de dilution qui sera réparti en goutte au fond de la boîte correspondante. L'opération est renouvelée pour la seconde boîte. On remonte jusqu'à la dilution supérieure sans changer de pipette, jusqu'à la première dilution.

Les gouttes sont ensuite recouvertes d'une couche de gélose PCA en surfusion, et le tout est homogénéisé avec des mouvements circulaires. On s'arrange pour que la gélose ne soit pas trop chaude de façon à ne pas tuer les bactéries. Une fois la gélose refroidie, on la passe une seconde couche de gélose PCA, ce qui a pour effet d'immobiliser les bactéries, et donc de former des colonies bien définies. On met à incuber à 30 °C pendant 72 h.

Pour le calcul du résultat final, on utilise la formule mathématique suivante :

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{\text{ml}} \times (n_1 + n_2) \times d_1}$$

- N : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial ;
- $\sum \text{colonies}$: sommes des colonies des boîtes interprétables ;
- Vml: volume de solution déposé (1 ml) ;
- n_1 : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue ;
- n_2 : nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue ;
- d_1 : facteur de la première dilution retenue.

- **Dénombrement des coliformes fécaux**

Les coliformes fécaux sont des entérobactéries fermentant le lactose à 44 °C avec production de gaz. Les coliformes sont recherchés dans les aliments car ils sont de bons marqueurs de l'hygiène des manipulations de ces aliments. Ils sont d'origine fécale. La numération des

coliformes est réalisée surtout dans le cadre de l'analyse de l'eau et des produits transformés. Elle permet de mettre en évidence un défaut de procédés ou de mauvaises conditions de fabrications. La culture se fait sur le milieu VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre). Il doit être préparé juste avant l'emploi et utilisé dans les 4h et permet de faire le comptage des colonies roses ou rouges violacées de diamètre supérieur à 0,5 mm qui se sont développées en 24h à 37°C. L'ensemencement se fait en profondeur en double couche.

- **Dénombrement de *Staphylococcus aureus***

Staphylococcus aureus est dénombré sur le milieu Baird Parker dont la base nutritive est constituée de tryptone, d'extrait de viande et d'extrait de levure. La présence de pyruvate protège les germes stressés et favorise leur récupération. Les agents sélectifs présents dans le milieu sont la glycine à forte concentration (nécessaire à la synthèse du peptidoglycane), le chlorure de lithium et le tellurite de potassium. Après stérilisation du milieu de base, on ajoute une émulsion stérile de jaune d'œuf (50 ml/l) au tellurite de potassium.

Le milieu gélosé Baird-Parker (BP) est ensemencé à partir de la suspension mère et de ses différentes dilutions. On dépose et on étale un volume de 0,1ml à la surface du milieu gélosé. Les boîtes de dénombrement sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures.

Sur milieu BP, *Staphylococcus aureus* se caractérise par des colonies noires (coloration due à la réduction du tellurite en tellure), brillantes, convexes, de 1 à 2 mm de diamètre après 24 heures d'incubation. Elles sont en général entourées d'un halo d'éclaircissement du jaune d'œuf correspondant à une protéolyse. Si l'on prolonge l'incubation, un halo opaque dû à une lipase peut apparaître autour des colonies.

L'identification de *Staphylococcus aureus* est basée sur la mise en évidence de la coagulase libre à partir de 5 colonies typiques prélevées sur milieu de Baird-Parker. Chaque colonie est ensemencée dans 0,5 ml de bouillon cœur-cerveille. Après 24 heures d'incubation à 37°C, on ajoute 0,5 ml de plasma de lapin et le mélange est incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, l'activité coagulase se traduit par une prise en masse du milieu. Les colonies sont ensuite dénombrées et le résultat est exprimé en UFC (unité formant colonie) par gramme.

- **Dénombrement des streptocoques fécaux (streptocoques D)**

C'est le même mode opératoire que pour le dénombrement des coliformes fécaux. Le milieu de culture utilisé est la gélose biliée, à l'esculine et à l'azide de sodium (BEA). L'incubation se fait à 37° C pendant 48 heures. Les colonies de streptocoques D apparaissent noires.

L'ensemencement de ces colonies noires dans le bouillon hypersalé (BHS) permet de différencier les D entérocoques des D non entérocoques.

- **Recherche des Salmonelles**

L'isolement et l'identification des Salmonelles comportent plusieurs étapes.

- Le pré-enrichissement

C'est une phase non sélective qui utilise un milieu riche (eau peptonée tamponnée) dans lequel l'échantillon est dilué en général au 1/10 et pour laquelle l'incubation dure une vingtaine d'heures à 37°C. Au terme de cette phase, toutes les Salmonelles (mais aussi les autres bactéries contenues dans l'échantillon) qui peuvent être initialement dans un état physiologique précaire parce que soumises à des conditions d'environnement très éloignées de celles de leur milieu de prédilection, ont récupéré leur faculté à se multiplier rapidement.

- L'enrichissement :

Afin de minimiser la croissance des autres bactéries associées au prélèvement et de poursuivre la multiplication sélective des salmonelles, une portion du milieu de pré-enrichissement (1 ml) est transférée dans deux milieux d'enrichissement, le bouillon au sélénite de sodium et le bouillon Rappaport-Vassiliadis. L'incubation se fait à 37°C pour le premier et à 42°C pour le second, pendant 24 heures. Pendant cette phase, le développement des salmonelles est favorisé au détriment des bactéries Gram (+) et d'autres entérobactéries.

- L'isolement :

Il s'agit également d'une phase sélective mais qui utilise cette fois des milieux solides coulés en boîtes de pétri. Le milieu d'isolement utilisé pour la recherche de salmonelles lors de cette manipulation est la gélose Hectoen qui est destinée à l'isolement des entérobactéries. Ce milieu permet de distinguer les colonies de bactéries capables de dégrader le lactose des autres colonies lactose (-) à l'instar des Salmonelles et des Shigelles. Les colonies verdâtres à centre noir (SH₂ +) sont suspectées être des salmonelles.

- L'identification biochimique et sérologique :

L'identification des souches de salmonelles suspectées sur la gélose Hectoen s'effectue grâce à l'utilisation d'une galerie d'identification Api 20^E qui comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'inoculation se traduisent

par des réactions colorées spontanées ou révélées par l'addition de réactifs. L'identification sérologique est pratiquée par l'utilisation de sérums agglutinants anti-salmonella commercialisés par différents fournisseurs.

1.1.3.3. Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats d'exams s'effectue au regard des limites numériques définies par les critères microbiologiques. Ces critères sont fixés par des arrêtés ministériels. La réglementation prévoit aussi la conduite à tenir en cas de dépassement des limites numériques. Lorsque le critère est un standard impératif, le lot de produit analysé doit faire l'objet d'un retrait de la consommation et des actions correctives sont à mettre en place. Dans le cas d'un standard indicatif, seules les actions correctives sont rendues obligatoires (Bombe et *al.*, 1997).

2. Bioconservation du poisson par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410

Malgré l'application des technologies modernes de transformation des aliments et l'application des principes de qualité, les toxi-infections alimentaires sont à la base de 6,5 à 33 millions de maladies humaines et de 9000 morts chaque année dans le monde (Mead et *al.*, 1999). L'aliment est la source fréquemment mise en cause. Des moyens usuels de prévention tels que les traitements physiques (pasteurisation, stérilisation, congélation, réfrigération) et chimiques (nitrites sulfites) compromettent souvent la qualité des aliments.

Fort de ce constat, les acteurs de l'agro-alimentaire sont de plus en plus contraints de réduire l'emploi de conservateurs chimiques pouvant avoir des effets néfastes sur la santé humaine. Ceci incite à la recherche d'autres alternatives notamment celles qui utilisent des agents biologiques connus pour leur innocuité. Ainsi, l'utilisation de souches bactériennes agissant comme des cultures protectrices semble être une voie d'avenir pour promouvoir une nouvelle catégorie d'aliments tels que les produits bio contenant des conservateurs dits naturels.

Dans ce contexte, les bactériocines qui sont des protéines antibactériennes produites par les bactéries et principalement les bactéries lactiques, présentent des dispositions favorables pour garantir la qualité hygiénique des aliments.

Ce travail vise à déterminer les conditions optimales de production de la bactériocine de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 en cultures batch (à volume constant).

2.1. Matériels

Ce travail a été réalisé entre le laboratoire de Microbiologie appliquée et de Génie industriel de l'École supérieure Polytechnique de l'UCAD et le laboratoire de biotechnologie de la division bio-industries de l'Université agronomique de Gembloux. L'étude consiste à utiliser un surnageant de culture de bactérie lactique (*Lactococcus lactis* CWBI-B1410) pour prolonger la durée de conservation du poisson à 4° C. Le plan expérimental envisagé doit permettre d'étudier l'influence du glucose et de la matière azotée sur la production de la bactériocine afin de définir le milieu optimal de production.

2.1.1. Souche utilisée et préparation du Surnageant de culture

La souche de *Lactococcus. lactis* CWBI-B1410 utilisée pour la culture protectrice présente une activité antibactérienne de type bactéricide en présence d'une solution de chlorure de sodium à une concentration de 0,14 mg/ml (Diop et al. 2007). Elle a été isolée à partir de farine de mil fermentée de transformation artisanale au Sénégal (Diop et al. 2007). Conservée à -80 °C sur billes, la souche a été repiquée sur gélose de Man, Rogosa, Sharpe (MRS). Deux colonies de la souche ont été inoculées dans 10 ml de bouillon MRS standard et incubés pendant 12 heures à 30 °C. On inocule 1 ml de préculture dans 100 ml de bouillon MRS standard ou bouillon MRS modifié pendant 24 heures à 30 °C. La centrifugation (Centrifugeuse Sigma 3-16 PK Fisher Scientific, Germany) de la culture à 10 000 rpm pendant 15 minutes permet de récupérer le surnageant de culture. Le pH (pH-mètre EcoScan 5/6, Eurotech instruments, Singapore) du surnageant étant acide (environ 4,2), il a été neutralisé à pH 6,2 par ajout d'une solution de NaOH 5N.

2.1.2. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant une durée de 20 minutes.

a. Eau peptonée stérile

Il a permis de réaliser dans des tubes à essai des dilutions décimales par ordre croissant pour le dénombrement microbiologique.

- **Composition pour 1 litre**

Peptone de caseine	1 g
NaCl	5 g
Tween	2 ml

b. Milieu gélosé MRS (Man, Rogasa, and Sharpe)

Il a permis le repiquage de la souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 sur boîte de Pétri.

- **Composition pour 1 litre**

Peptone de caséine	10 g
Extrait de levure	5 g
Extrait de viande	5 g
Acétate de sodium	5 g
Phosphate dipotassique	2 g
Citrate d'ammonium	2 g
Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	0,1 g
Sulfate de manganèse, 4 H ₂ O	0,05 g
Glucose	20 g
Tween	1 ml
Eau distillée	1000 ml

pH 6,6

- **Principe**

- La peptone, le glucose et les sels de manganèse et de magnésium apportent les éléments nutritifs indispensables à la croissance des lactobacilles.
- Le Tween 80 est un agent mouillant dans la culture bactérienne. Son addition dans le milieu de culture MRS améliore nettement la croissance des bactéries lactiques.
- Le phosphate dipotassique contribue à stabiliser le pH au cours de la croissance bactérienne.
- Le citrate d'ammonium et l'acétate de sodium constituent les substances inhibitrices du développement de la plupart des contaminants tels que les streptocoques et les moisissures.

c. Milieu MRS bouillon

Ce milieu a été utilisé pour l'activation de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 et également pour la production de la bactériocine. Il est différent du précédent milieu par le fait qu'il ne contient pas d'agar.

d. Préparation du milieu de culture MRS modifié

Le milieu MRS standard et un milieu MRS modifié sont utilisés pour cultiver la souche de *Lactococcus lactis* dans les mêmes conditions. Pour la composition du milieu MRS modifié, on maintient d'abord constants tous les paramètres du milieu MRS standard et on fait varier la concentration en glucose dans le milieu. Ensuite, on fait varier la concentration en matière azotée et la concentration des autres composants reste maintenue.

Pour évaluer l'influence de la concentration du glucose sur la production de la biomasse, 1ml d'inoculum de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410, est ajouté aseptiquement à six fioles F1, F2, F3, F4, F5 et F6 contenant 100 ml de bouillon MRS de concentrations différentes en glucose. La fiole F3 contient du MRS standard (20 g/L de glucose), F1, F2, F4, F5 et F6 contiennent respectivement 10, 15, 40, 60, 80 g/L de glucose. Ces six fioles sont incubées à 30°C puis, un suivi de la croissance cellulaire est réalisé sur une période de 24 heures.

Afin d'évaluer l'influence de la concentration en matière azotée (peptone de caséine, extrait de levure et extrait de viande) sur la production de la biomasse de *Lactococcus lactis*, les mêmes expériences sont réalisées avec des concentrations en matière azotée de 10, 20, 40 et 60 g/L. A l'issue de ces essais, les concentrations de glucose et de matière azotée qui favorisent le plus le développement de la bactérie lactique seront choisies pour reconstituer le milieu MRS modifié. La croissance bactérienne est estimée au spectrophotomètre à 620 nm.

2.2.Méthodes

2.2.1. Échantillonnage et filetage du poisson

Les prélèvements qui ont servi à réaliser cette étude ont été effectués à La plage de Ouakam, banlieue dakaroise, très représentative de la pêche artisanale au Sénégal. Le poisson étudié (sole limande) a été acheté auprès des fournisseurs sur place lors des débarquements et conditionné dans des sachets stériles et conservé dans une glacière. Immédiatement après prélèvement, les poissons ont été écaillés, éviscérés, lavés sur place et placés dans des emballages stériles puis conservés au frais dans une glacière. Aussitôt après, ils sont transportés au Laboratoire où ils ont été lavés avec de l'eau du robinet potable, puis filetés stérilement.

2.2.2. Traitement et Application des surnageants sur le filet de sole

Les surnageants de culture neutralisés ont été traités au Bain marie à 80 °C pendant 15 minutes puis refroidis à température ambiante (environ 25 °C) pendant 1 heure avant d'être utilisés pour imprégner les filets. Les analyses ont porté sur trois lots.

Le premier lot de filet qui a servi de témoin n'est imprégné d'aucun surnageant. Dans le deuxième lot, on ajoute 100 millilitres de surnageant de bouillon MRS standard dans 100 grammes de filets de poisson et le tout est placé dans un sachet stomacher stérile. Enfin Le

troisième lot a subi le même traitement que le deuxième avec le surnageant issu du bouillon MRS modifié.

Les lots traités aux surnageants et le lot témoin ont été conservés au réfrigérateur à 4 °C. Un suivi de l'évolution de la flore mésophile aérobie dans les trois lots permet de vérifier l'effet antibactérien des surnageants de culture neutralisés.

2.2.3. Préparation des prises d'essais et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

La flore mésophile aérobie totale (FMAT) a été dénombrée sur gélose pour dénombrement PCA (Plate Count Agar). La solution mère pour les besoins des dilutions décimales a été préparée en ajoutant 90 ml d'eau peptonnée stérile à 10 grammes de filet traité avec le surnageant neutralisé ou avec le filet seul. Ce mélange qui correspond à la prise d'essai a été vigoureusement broyé pendant 1 minute à l'aide d'un vortex. A partir de la prise d'essai il a été effectué des dilutions décimales. Pour chaque lot, on ensemence au moment de l'analyse 1 ml de la prise d'essai et de ses dilutions dans deux boîtes de pétri distinctes (ensemencement en double). Les boîtes sont ensuite placées à 37 °C et les colonies sont comptées au bout de 24 heures d'incubation. Le résultat final est exprimé en nombre « d'Unité Formant Colonies » (UFC) par gramme de produit analysé.

TROISIEME PARTIE :

PRESENTATION DES

RESULTATS ET DISCUSSION

GENERALE

1. PRESENTATION DES RESULTATS

Ce travail a consisté à étudier d'une part la qualité générale (analyses sensorielles, chimiques et microbiologiques) de la matière première utilisée dans les entreprises de pêche au Sénégal à trois étapes différentes (capture, débarquement et entrée en usine) et d'autre part à optimiser les conditions de bioconservation du poisson par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410.

La première partie des résultats exposera l'étude de la qualité générale de trois espèces de poissons démersaux pêchés artisanalement, la sole limande (*Syacium guineensis*), le mérrou à points bleus (*Cephalopholis taeniops*) et le rouget (*Pseudupeneus prayensis*) débarqués par la pêche artisanale. Ces espèces sont suivies depuis la capture jusqu'à leur acheminement en usine. L'étude s'est intéressée à l'analyse sensorielle, chimique et microbiologique du poisson.

La deuxième partie présentera l'étude de la bioconservation du poisson par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410. Il s'est agi d'optimiser les conditions de croissance de cette bactérie lactique sur le milieu MRS en faisant varier la quantité de glucose et de matière azotée dans le milieu.

La pêche artisanale au Sénégal : qualité de la matière première destinée aux entreprises exportatrices

Modou DIENG^{1*}, Papa NDIAYE², Khadim NIANG³, Ndèye Coumba Kane TOURE⁴ et Mama SAKHO⁵

¹Laboratoire d'Analyses et d'Essais (LAE), Ecole Supérieure Polytechnique (ESP),
Université Cheikh Anta DIOP (UCAD), Dakar, Senegal

²Médecine Préventive et Santé Publique (MP/SP), UCAD, Dakar, Senegal

³Médecine Préventive et Santé Publique (MP/SP), UCAD, Dakar, Senegal

⁴Laboratoire de Bactériologie-Virologie, CHU Aristide LeDantec, Dakar, Senegal

⁵Laboratoire de Formation continue en Agro-alimentaire / ESP / UCAD, Dakar, Senegal

* Correspondance, courriel : diengmod@yahoo.fr

Résumé

Les conditions d'hygiène de la pêche artisanale au Sénégal ne respectent pas toujours les normes de qualité requises. Ce présent travail se propose d'étudier la qualité de trois espèces de poissons démersaux ; la sole limande (*Syacium guineensis*), le mérrou à points bleus (*Cephalopholis taeniops*) et le rouget (*Pseudupeneus prayensis*) débarqués par la pêche artisanale. Ces espèces sont suivies depuis la capture jusqu'à leur acheminement en usine. L'évaluation sensorielle de la fraîcheur du poisson a consisté à tester la qualité par le toucher, l'odorat, la vue et le goût. Le dosage de l'azote basique volatil total (ABVT) a permis de déterminer la teneur totale en azote des bases azotées volatiles résultant de la dégradation des composés azotés du poisson lors de l'altération. La méthode d'analyse microbiologique utilisée est celle qui consiste à incorporer un volume donné de la prise d'essai et de ses dilutions dans un milieu de culture solide. A l'analyse sensorielle, les trois espèces, aux différentes étapes, étaient de très bonne qualité. Les valeurs de la flore mésophile aérobie sur le poisson à la capture sont très faibles contrairement au débarquement et à l'entrée en usine. Au niveau des branchies et de la peau, les résultats montrent une augmentation significative de la flore au débarquement et à l'entrée en usine. Au niveau des viscères, la flore augmente jusqu'au débarquement puis décroît. Les résultats des analyses chimiques ne reflètent pas forcément les risques de dégradation du poisson.

Mots-clés : pêche artisanale, poisson, qualité matière première, exportation, Sénégal.

Abstract

Artisanal fisheries in Senegal: Quality of raw materials for exporting companies

Hygienic conditions of artisanal fisheries in Senegal do not always respect the required quality standards. This study expects to scrutinize the quality of bottom fish sole (*Syacium guineensis*), grouper blue spotted (*Cephalopholis taeniops*), red mullet (*Pseudupeneus prayensis*) disembarked by artisanal fisheries. These species are followed since the capture until their routing in factory. The sensory evaluation of fish freshness was to test the quality through touch, smell, sight and taste. The determination of total volatile basic

nitrogen (ABVT) allowed determining the total nitrogen content of volatile nitrogenous bases resulting from the degradation of nitrogenous compounds in fish spoilage. The used-microbiological-method is the one that consist in incorporating a given volume of the sample and its dilutions in a solid cultural medium. The results of sensory analysis on the three species at different stopovers were very good. The values of the aerobic mesophilic flora on the fish caught are very low compared to the one landed at the entrance to the factory. At the gills and skin, the findings show a significant increase in flora and landed at the entrance to the factory. In the viscera, flora increases and then decreases until the debarkation. The results of sensory and chemical analysis may not reflect the risks of degradation of fish.

Keywords : *artisanal fisheries, fish, quality, raw materials, exportation, Senegal.*

1. Introduction

La pêche artisanale occupe une place de choix dans les activités halieutiques des pays côtiers de l'Afrique subsaharienne. Les produits halieutiques destinés à l'Union Européenne (UE) à partir de ces pays tiers sont soumis aux mêmes conditions de production et de contrôle sanitaire que les produits transformés dans les pays membres de l'UE [1]. C'est le principe de l'équivalence qui n'épargne pas le Sénégal. Au Sénégal, la majeure partie des produits pêchés est destinée à l'exportation. Avec les nombreuses difficultés auxquelles elle est confrontée, la hausse des exportations de produits halieutiques observée ces dernières années, a connu un ralentissement [2]. Au Sénégal, le système d'approvisionnement ne permet pas aux industriels de retrouver l'origine d'un éventuel incident sanitaire. En effet, les conditions d'hygiène de la pêche artisanale depuis la capture en passant par la conservation dans la pirogue jusqu' à l'acheminement du produit à l'usine, ne respectent pas toujours les normes d'hygiène requises. Cette étude s'est ainsi intéressée à la qualité (sensorielle, chimique et microbiologique) de trois espèces de poissons de fonds (la sole, le mérou à points bleus et le rouget) capturés par la pêche artisanale et suivis jusqu'à l'entrée en usine où ils sont transformés en filets destinés à l'exportation.

2. Matériel et méthodes

2-1. Le contexte

Les eaux sénégalaises, notamment celles qui bordent la presqu'île du Cap-Vert, sont très poissonneuses. Les populations qui vivent le long des côtes ont une très ancienne tradition des métiers de la mer. Aujourd'hui, on estime qu'il y a plus de 60 000 pêcheurs et 8 000 pirogues motorisées (DPM, 2004). La plage de Ouakam, banlieue dakaroise, très représentative de la pêche artisanale au Sénégal, a servi de cadre à cette étude. L'étude a été menée dans la période allant du 5 mars au 31 juillet 2008. Elle a porté sur trois espèces de fonds : la sole limande (*Syacium guineensis*), le mérou à points bleus (*Cephalopholis taeniops*) et le rouget (*Pseudupeneus prayensis*) (**Tableau 1**). La sole est rencontrée dans les fonds sableux entre 10 et 110 m de profondeur. Il peut vivre jusqu'à 200 m de profondeur au large. Son identification est facilitée par la forme ovale de son corps, et sa tête arrondie [3]. Le Mérou vit dans les fonds rocheux accidentés où il peut s'abriter dans une cavité ou une grotte. Il a un corps massif et une tête volumineuse avec une large mâchoire inférieure qui dépasse sur l'avant la mâchoire supérieure [3]. Le Rouget vit sur les fonds de sable et de sédiment jusqu'à 75 m de profondeur. Sa tête est un peu voutée. Son corps est parcouru, de chaque côté et de la tête à la queue, par des traits dorés. Il se nourrit d'invertébrés benthiques détectés grâce à ses barbillons [3].

Tableau 1 : Présentation des espèces étudiées

Espèces			
Nom français	Sole limande	Mérrou à points bleus	Rouget
Nom scientifique	<i>Syacium guineensis</i>	<i>Cephalopholis taeniops</i>	<i>Pseudupeneus prayensis</i>
Taille moyenne	40 cm	45 cm	33 cm
Milieu fréquenté	Eaux sablo-vaseuses	Fonds sableux et vaseux côtiers	zones rocheuses et fonds sableux
Profondeur	10 à 110 mètres	20 à 45 mètres	3 à 75 mètres

2-2. Échantillonnage

Les échantillons ont été prélevés en amont de la transformation à l'usine en trois périodes différentes correspondant chacune à un des trois niveaux de la filière : capture en mer, débarquement et entrée en usine. Les prélèvements à la capture, dont l'objectif était de connaître le taux de flore initial dans le poisson, ont été effectués au large de la plage avec l'aide d'un piroguier. Immédiatement après la capture, le poisson est placé dans un emballage stérile puis conservé au frais dans une glacière. Les prélèvements au débarquement ont été effectués stérilement et dans les conditions habituelles de travail des pêcheurs à partir, soit du fond de la pirogue, soit des caisses de polystyrène contenant initialement de la glace. Les prélèvements à l'entrée en usine ont été faits au hasard avant lavage de la matière première. Pour éviter des changements dans les conditions habituelles de travail, les manutentionnaires et les mareyeurs chargés de fournir le poisson n'ont pas été pas avisés. Lors des prélèvements à l'entrée en usine, du rouget n'a pas été trouvé. De ce fait, les analyses sur cette espèce n'ont été effectuées qu'à la capture et au débarquement.

2-3. Qualité du poisson

Le degré de fraîcheur du poisson a été mesuré par l'évaluation sensorielle basée sur le toucher, l'odorat, la vue et le goût, à l'aide du barème de cotation de la Communauté Economique Européenne (CEE, 1976). Chaque critère a été coté de 0 à 6. A la fin, la somme des cotations indiquait la valeur m correspondant à un niveau de qualité : très bonne ($m < 1,5$), bonne ($1,5 < m \leq 2$), assez bonne ($2 < m \leq 2,5$), acceptable ($2,5 < m \leq 3$), médiocre ($3 < m \leq 3,5$), très médiocre ($3,5 < m \leq 4$), ou inacceptable ($m > 4$). Pour minimiser la subjectivité, l'évaluation sensorielle a été complétée par des analyses chimique (dosage de l'acide basique volatil total/ABVT) et bactériologique (dénombrement de la flore mésophile aérobie totale : coliformes fécaux et totaux, staphylocoque aureus, salmonelle et streptocoques fécaux). Les résultats constituent la moyenne arithmétique de l'analyse de cinq prises d'essai réalisées chacune à partir d'un échantillon de cinq poissons. Le dosage de l'ABVT a été effectué sur la chair du poisson. Il détermine la teneur totale en azote des bases azotées volatiles résultant de la dégradation des composés azotés du poisson. Il a été effectué après défécation de la prise d'essai par l'acide trichloracétique. La prise d'essai a été distillée à la vapeur puis recueillie et neutralisée par une solution d'acide chlorhydrique à 0,1N [4]. La teneur en ABVT a été estimée en mg de $NH_3/100$ gr. de chair (**Tableau 2**).

L'analyse microbiologique a porté sur trois parties du poisson : la peau, les viscères et les branchies. Elle consistait à incorporer 1 millilitre de la prise d'essai et ses dilutions décimales dans un milieu de culture solide. Les bactéries vivantes donnent naissance, dans les conditions favorables, à des colonies isolées appelées «Unités Formant Colonies (UFC)» dénombrables. Le résultat final était exprimé en nombre d'UFC par gramme de produit analysé.

Tableau 2 : Catégories de fraîcheur du poisson osseux selon la teneur en Acide Basique Volatil Basique Total (ABVT).

mg NH ₃ / 100 gr. de chair	Catégorie	Qualité
moins de 20	E	supérieure
entre 20 et 30	A	inférieure
entre 30 et 40 mg	B	acceptable

3. Résultats

3-1. Degré de fraîcheur

Les tests organoleptiques chez la sole ont donné des résultats variant entre 0,95 à la capture, 1,03 au débarquement et 1,15 à l'entrée en usine. Quant au mérou à points bleus, les valeurs trouvées à la capture, au débarquement et à l'entrée en usine ont été respectivement 1,02, 1,06 et 1,10. Pour le rouget, les résultats passent de 0,94 à la capture à 1,04 au débarquement.

3-2. Acide basique volatile total (ABVT)

Le taux d'ABVT chez la sole a baissé de 26,51 à la capture à 19,38 au débarquement puis à 17,68 à l'entrée en usine. S'agissant du mérou à points bleus, elle a varié de 17,00 à la capture à 21,08 au débarquement et à 18,70 à l'entrée en usine. Chez le rouget, elle est passée de 17,14 à la capture à 20,04 au débarquement

(Figure 1).

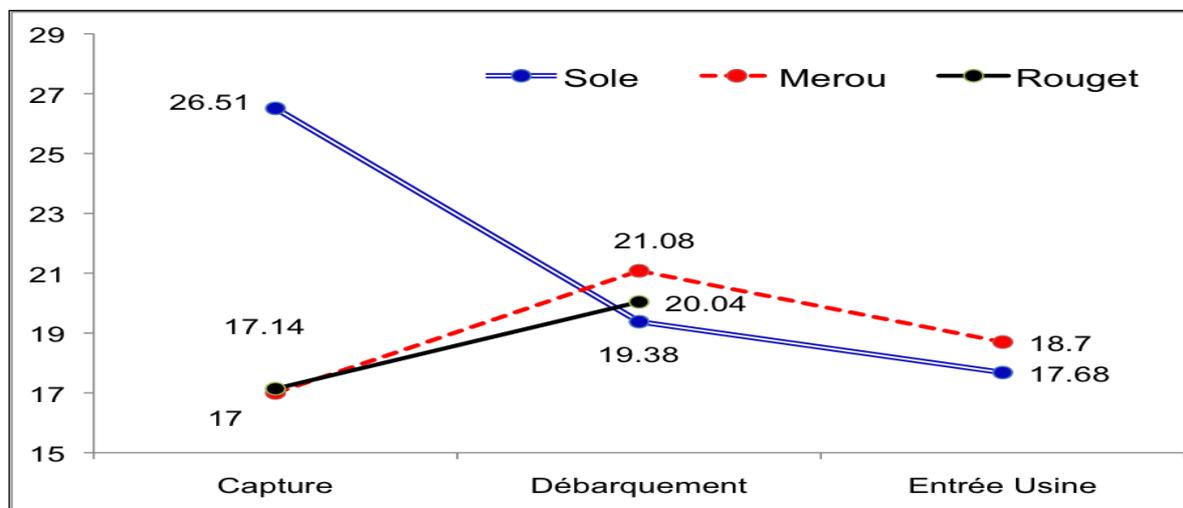


Figure 1 : Valeurs de l'azote basique volatil total en mg de NH₃/100gr.

3-3. Flore mésophile aérobie totale

Au niveau de la peau, la valeur de la flore mésophile chez la sole à la capture a été multipliée par 633 au débarquement et à 3428 à l'entrée en usine. Chez le mérou à points bleus cette valeur a été multipliée par 676 au débarquement et à 7344 à l'entrée en usine. Chez le rouget, la valeur à la capture a été multipliée par 306 au débarquement (*Tableau 3*). Au niveau des branchies, les résultats microbiologiques chez la sole et le mérou à points bleus à la capture sont nettement inférieurs aux valeurs trouvées au débarquement et à l'entrée en usine (*Tableau 3*). Au niveau des viscères, une augmentation de la flore bactérienne, de la capture au débarquement, suivie d'une diminution à l'entrée en usine chez la sole et le mérou à points bleus, ont été constatées (*Tableau 3*).

Tableau 3 : Flore mésophile aérobie totale au niveau de la peau, des branchies et des viscères (UFC/gramme)

Organes analysés	Etapes	Espèces		
		Sole	Mérou à points bleus	Rouget
Peau	Capture	694	650	1670
	Débarquement	460 200	439 800	512 600
	Entrée Usine	2 378 800	4 774 000	-
Branchies	Capture	956	248	442
	Débarquement	696 800	1 170 400	819 660
	Entrée Usine	1 526 000	1 452 000	-
Viscères	Capture	1 698	888	288
	Débarquement	295 000	114 600	36 720
	Entrée Usine	42 400	29 360	-

UFC : Unité Formant Colonie

4. Discussion

La principale limite de cette étude est l'absence d'une des trois espèces étudiées (le rouget) à l'un des trois niveaux de prélèvement (entrée en usine). Ceci s'explique par la période qui a été différente pour chaque niveau de prélèvement, et la courte période d'étude. Cependant, pour la planification de recherches ou de programmes ultérieures, des résultats intéressants ont été trouvés pour les différentes analyses : sensorielles, chimiques et microbiologiques. La détermination du degré de fraîcheur chez les poissons prélevés à la capture, au débarquement et à l'entrée en usine a permis de les catégoriser selon la réglementation de l'Union Européenne en vigueur. A la capture les trois espèces analysées sont de très bonne qualité car toutes les valeurs obtenues sont inférieures à 1,5. Au débarquement, nous constatons que la sole, le mérou à points bleus et le rouget sont également de très bonne qualité avec des moyennes respectives de 1,03 ; 1,06 ; et 1,04. Au vu des résultats concernant l'analyse sensorielle, on peut remarquer

que les valeurs trouvées pour l'ensemble des échantillons restent largement en deçà des normes fixées par l'Union Européenne. Par conséquent, ces produits de pêche sont déclarés de très bonne qualité après examen sensoriel. A l'entrée en usine, l'analyse des différents échantillons confirme les résultats précédents. Les valeurs moyennes trouvées (1,15 pour la sole et 1,1 pour le mérrou à points bleus) les classe dans la catégorie « très bonne qualité ».

L'analyse physico-chimique, selon la directive 91/493 CEE [1] et les réglementations sanitaires d'autres pays, doit être systématique sur des échantillons prélevés, en vue de doser les composés résultant de la dégradation de la chair de poisson tels que l'histamine, la triméthylamine (TMA) et l'ABVT [4]. A la capture, le taux d'ABVT est variable d'une espèce de poisson à l'autre : 26,51mg/100gr pour la sole, 17 mg/100 gr pour le mérrou à points bleus, et 17,14mg/100gr pour le rouget. Ainsi, la sole peut être classée dans la catégorie A, le mérrou à points bleus et le rouget dans la catégorie E. Au débarquement, la valeur d'ABVT chez la sole diminue par rapport à la capture. Par contre, la quantité d'ABVT chez le mérrou à points bleus et celle du rouget a augmenté. Cela laisse supposer une production de composés basiques volatils résultant de l'altération des protéines du poisson ou des acides aminés chez le mérrou à points bleus et le rouget. L'altération s'est poursuivie et le produit passe de la catégorie E (supérieure) à la catégorie A (inférieure).

A l'entrée en usine, la teneur en ABVT chez la sole diminue (17,68 mg /100 gr.). Il en est de même pour le mérrou à points bleus (18,70 mg/100 gr.). La baisse observée entre le débarquement et l'entrée en usine chez la sole et le mérrou à points bleus, est due à un ralentissement ou à un arrêt des réactions de dégradation. D'après des études menées par [5], l'ABVT est faible au moment de la capture et pendant la période de stockage où le poisson est comestible ; il n'augmente rapidement que quand le poisson est très près du seuil de rejet [5]. La charge microbiologique en flore mésophile aérobie totale est variable d'une étape à une autre (capture, débarquement, entrée usine) mais également d'un organe à un autre comme la peau, les branchies, et les viscères. A la capture, la peau du poisson est faiblement contaminée par la flore mésophile aérobie (694 UFC/g chez la sole, 650 UFC/g chez le mérrou et 1670 UFC/g chez le rouget) ; et il n'y a pas de coliformes fécaux et totaux, de streptocoques fécaux, de staphylocoques aureus et de salmonelles.

Dans les branchies du poisson, il y'a également une faible présence de coliformes fécaux et totaux, de streptocoques fécaux et une absence de staphylocoques aureus et de salmonelle. Au niveau des viscères, la flore mésophile aérobie totale est élevée avec une présence de coliformes totaux, de coliformes fécaux et de Streptocoques fécaux. Cette hausse de la flore constatée au niveau des viscères, de la capture au débarquement pourrait s'expliquer par les mauvaises conditions de pêche et de conservation du poisson après capture. Au niveau des viscères, une importante diminution de la flore à l'entrée en usine a été notée. Le nombre de coliformes totaux et fécaux et de streptocoques fécaux est très inférieur par rapport au débarquement. La baisse de la flore microbienne dans les viscères chez la sole limande et le mérrou à points bleus entre le débarquement et l'entrée en usine est conforme à une étude menée par [6]. Cette étude révèle que le tractus digestif du poisson généralement contaminé par des bactéries, en majorité anaérobies facultatives, s'auto épure et peut devenir stérile quand le poisson cesse de se nourrir.

Au débarquement, la forte croissance de flore mésophile aérobie au niveau de la peau, est également constatée au niveau des branchies et des viscères chez les trois espèces. De même, les Coliformes fécaux et totaux et les Streptocoques fécaux ont augmenté de nombre au niveau des différents organes contrôlés au débarquement. Ceci pourrait s'expliquer par un manque d'hygiène lors de la manipulation du poisson ou sa mauvaise conservation après capture. A l'entrée en usine, la contamination microbienne s'accroît, révélant une flore largement supérieure à celle présente au débarquement. En effet, après capture, le poisson est d'abord déposé au fond de la pirogue avant d'être gardé dans les caisses en polystyrène. Ainsi, on remarque un accroissement de la flore mésophile aérobie au niveau des branchies.

Les branchies qui captent l’oxygène pour la respiration du poisson, se chargent aussi de retenir toutes les particules que contient l’eau dont les bactéries. Une eau de mer fortement contaminée entraîne en conséquence une présence importante de bactéries dans les branchies [7]. Une mauvaise conservation du poisson après capture y entraîne ainsi leur prolifération [8]. La contamination des viscères est liée à l’alimentation du poisson. Les poissons qui se nourrissent de débris de végétaux ou de crustacés contenant des germes peuvent avoir dans leurs voies digestives des bactéries [9]. Lors d’une manipulation brutale du poisson, les bactéries disséminent et contaminent les viscères. A l’état vivant, le poisson qui est doté d’une capacité d’autodéfense immunitaire s’oppose à l’action bactérienne [9]. Après la mort du poisson, une évolution de la flore microbienne commence dans les heures qui suivent la capture, ce qui peut se manifester au débarquement. Ainsi, de la capture au débarquement, le poisson a été contaminé par les manipulations du pirogquier ou la mauvaise conservation durant la période de la pêche. Selon Shewan [10], les bactéries altérant le poisson se multiplient rapidement (croissance exponentielle) pour atteindre en conditions aérobie des taux de l’ordre de 10^8 - 10^9 bactéries / g de chair ou cm^2 de peau dû au fait qu’elles possèdent souvent des temps de génération très courts.

5. Conclusion

La qualité de la matière première provenant de la pêche artisanale et destinée aux entreprises de pêche au Sénégal a été évaluée en amont de sa transformation, à trois différentes étapes : capture, débarquement et entrée en usine. Le degré de fraîcheur a été satisfaisant pour les trois espèces à toutes les étapes. Les analyses chimiques (ABVT) n’ont révélé aucune valeur anormale. Les résultats microbiologiques ont montré que le poisson dans son milieu naturel est faiblement contaminé au niveau de la peau et des branchies ; et que les quelques germes rencontrés dans les viscères sont apportés par l’alimentation. La contamination microbienne augmente au débarquement puis à l’entrée en usine. Si les industriels ont maîtrisé les points critiques au sein de leurs entreprises, ils se doivent de faire un plus pour mieux contrôler la qualité de la matière première en amont pour une meilleure santé des nombreux consommateurs auxquels sont destinés les produits finis.

Références

- [1] - CEE, Journal officiel des communautés européennes : principes généraux et prescriptions générales de la législation L31/2, n° 178 (2002).
- [2] - DPM, Résultats généraux de la pêche maritime sénégalaise. Rapport de la Direction des Pêches Maritimes, Ministère de la Pêche et de l’économie Maritime, République du Sénégal (2004).
- [3] - M.S. BELLEMANS, A. SAGNA, W. FISCHER et N. SCIALABBA, “*Guide des ressources halieutiques du Sénégal et de la Gambie*”, Fiches FAO d’identification des espèces pour les besoins de la pêche (espèces marines et d’eaux saumâtres). Rome, FAO, 76-100 , (1988)
- [4] - C. M. BOURGEOIS et J. Y. LEVEAU, “*Techniques d’analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires*”, Volume 3 : Le contrôle microbiologique, Collection Sciences et techniques agro-alimentaires. 2^{ème} édition, Paris Lavoisier (1980).
- [5] - A. R. STROM, “*Marine Biology*”, Biosynthesis of trimethylamine oxide in calanoid copepods, seasonal changes in trimethylamine mono-oxygenase activity. Volume 51 Number 1 (1979).
- [6] - F. SOUDAN, M. ANQUEZ, et A. BENEZIT, “*la conservation par le froid des poissons, Crustacées et Mollusques*”. Paris : Ballières et fils (1965)

- [7] - B. OUATTARA, Etude de la qualité bactériologique des filets de poissons congelés, *Thèse de doctorat en médecine vétérinaire*, Dakar (1980).
- [8] - K. ISHIKAWA, “*la gestion de la qualité : Outils et applications pratiques*”. 2ème édition Paris : Dunod. (1994)
- [9] - L. H. ABABOUC, “*Assurance de la qualité en industrie halieutique*”, Manuel Scientifique et technique. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Editions Actes 1995, 214 p. 2, Rabat, Maroc (1995).
- [10] - J. M. SHEWAN et C. K. MURRAY, The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychophiles. In “*cold-tolerant microbes in spoilage in the environment Londres*”: Academic Press (1979).

Analyses microbiologiques de l'eau de mer

1. Matériels et Méthodes :

Les échantillons d'eau de mer ont été prélevés au lieu de capture dans des flacons stériles et gardés dans une glacière à 4 ° C jusqu'au laboratoire.

L'analyse a consisté à prélever 1 ml de l'échantillon de l'introduire dans 9 ml d'eau physiologique stérile (dilution au 10⁻¹) et procéder à une homogénéisation. Nous réalisons ainsi des dilutions décimales en cascades jusqu'à 10⁻⁴. On ajoute ensuite 1 ml de chaque dilution dans une boîte de Pétri et on additionne le milieu de culture correspondant à aux germe recherché, du PCA (Plate Count Agar) pour la flore mésophile aérobie totale, du VRBL pour les coliformes totaux et fécaux, de la gélose Bile esculine agar pour les Streptocoques fécaux. 0,1 ml de chaque dilution a été étalé dans une boîte de Baird-Parker. Les Salmonelles ont été recherchées dans un (1) litre par filtration sur membrane de porosité 0,22 microns.

2. Résultats

Les valeurs du Tableau VIII montrent que l'eau de mer prélevée au large ne présente pas une forte contamination.

Tableau V: Résultats des analyses de l'eau de mer

	FMAT / ml	CT / 100 ml	CF / 100 ml	SF / 100 ml	<i>S. aureus</i> / 100 ml	Salmonelle / litre
Echantillon n°1	16	07	00	00	00	Absence
Echantillon n°2	12	03	00	00	00	Absence
Moyenne	14	05	00	00	00	Absence

CT : coliformes totaux ; CF: coliformes fécaux; SF: Streptocoques fécaux

Ces résultats d'analyses se caractérisent par une faible présence de flore mésophile par millilitre d'eau de mer (14/ml) et un faible taux de coliformes totaux par 100 millilitres (05 en moyenne). L'absence remarquable de coliformes fécaux, de *Staphylocoque aureus*, de streptocoques fécaux et de Salmonelles dans l'eau de mer révèle que l'eau de mer qui a été prélevée lors des captures n'a pas subi une contamination fécale.

Malgré cette absence de contamination fécale dans l'eau de mer, il est difficile d'affirmer que le poisson capturé est biologiquement stérile car la contamination peut provenir d'autres sources telles que leurs nourritures ou le changement de milieu de vie du poisson dû au phénomène de migration.



Bioconservation des filets de sole limande frais (*Syacium guineensis*) au Sénégal par utilisation de la souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410

M. DIENG¹, M. MBENGUE¹, K. NDIAYE¹, E. TINE¹, P.S. KONE²,
M. BALDE³, N.C.T. KANE⁴✉

¹ Laboratoire De Microbiologie appliquée et de Génie industriel(LMAGI), Ecole Supérieure Polytechnique (ESP), UCAD, Dakar

² Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine vétérinaires, BP: 5077 Dakar, Fann, Sénégal

³ Laboratoire de Traitement de l'Information (LTI), ESP, UCAD, Dakar, Sénégal

⁴ Laboratoire de Bactériologie-Virologie, CHU Aristide LeDantec, Dakar, Sénégal

✉ Correspondance et tirés à part, e-mail : ctourekane@yahoo.co.uk

Résumé :

La contamination des produits de la pêche par les microorganismes constitue un des principaux défis à relever dans la conservation malgré les nombreuses techniques chimiques et physiques qui ont été mises au point dans ce domaine. Soucieux de résoudre ce problème, les industriels utilisent de plus en plus des techniques basées sur l'activité antimicrobienne naturelle associée à des souches bactériennes agissant comme des cultures protectrices. Ainsi, cette étude a pour objectif d'optimiser les conditions de culture de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 par la variation de la concentration de certains constituants du milieu de culture MRS, comme le glucose (7 concentrations différentes) et la matière azotée (4 concentrations différentes) afin d'évaluer l'effet antimicrobien du surnageant de culture. Il ressort de cette étude que la production de biomasse par la souche de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 peut être améliorée grâce à une reconstitution du milieu MRS avec des concentrations de 15g/l de glucose et de 40 g/l en matière azotée. Cette modification de la composition du milieu MRS standard améliorerait l'activité antimicrobienne de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410. (RASPA, 11 (1) : 31-36).

Mots-clés : Produits de la pêche - optimisation - *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 - glucose - matière azotée - bioconservation.

Abstract:

Biopreservation of tongue sole filets (*Syacium guineensis* in Senegal by using *Lactococcus lactis* CWBI-B1410.

The contamination of the fishery products by the micro-organisms remains a big challenge; many chemical and physical techniques were developed to fight it. Despite all the efforts made to this end, the problem remains unsolved. Worried to solve this problem, industrialists use more and more techniques based on natural antimicrobial activity associated with bacterial strains acting as protective cultures. This study aimed to optimize the culture conditions of *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 by using different concentrations of some constituents in the MRS culture medium such as glucose (7 different concentrations) and nitrogenized matter (4 different concentrations) in order to evaluate the antimicrobial effect of the *Lactococcus* culture supernatant in the filets sole preservation. It comes out from this study that the production of biomass by the *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 can be improved by reconstituting the MRS medium with concentrations of 15g/l of glucose and 40 g/l of nitrogenized matter.

Keys – Words: Fishery products - optimizing - *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 - glucose - nitrogenized matter - bioconservation

Introduction

Au Sénégal, la pêche artisanale occupe incontestablement une place de choix dans les activités halieutiques. Le pays est réputé pour la richesse de ses ressources halieutiques et ses nombreux quais de débarquement. La contamination des produits de la pêche par les micro-organismes est un problème qui n'est pas encore maîtrisé malgré la disponibilité de nombreuses techniques de conservation telles que la réfrigération, la congélation, le séchage et le salage. Les transformateurs et industriels de la pêche continuent de faire face au problème de recontamination. A l'état vivant, le muscle du poisson est stérile. Cependant, la peau, le mucus, les branchies et tout le tractus gastro-intestinal contiennent une flore bactérienne importante, dont la composition et la quantité varient en fonction de l'espèce considérée, de l'alimentation, de la température de l'eau, la salinité, la teneur en oxygène dissous et du degré de pollution.

Des études de ABGRALL [1] ont pu montrer que les charges bactériennes les plus fréquemment rencontrées varient de 103 à 107 germes/g dans les branchies, 102 à 105 /cm² sur la peau et 103 à 105 /g dans le tube digestif. Cependant, des travaux de DIOP réalisés en 2007 [7] ont révélé que la flore mésophile totale dans les poissons de production artisanale au Sénégal atteignait 5,70 log UFC/g. Selon Liston [13], malgré une prédominance de bactéries à Gram positif et d'entérobactéries, la flore chez les poissons tropicaux montre globalement la même charge microbienne que les études de ABGRALL [1]. Cependant, les travaux de SYLLA et al. en 2003 [17], ont montré que 48 % des échantillons de poisson prélevés sont satisfaisants avec un taux de flore inférieur à 105 UFC/g. Cette étude a montré également que 38 % des échantillons sont acceptables avec un taux de flore compris entre: 105 et 106 UFC/g et enfin 14 % des échantillons sont

non satisfaisants avec un taux de flore supérieur à 106 UFC/g. Dans le souci de résoudre ce problème tout en évitant l'utilisation d'agents conservateurs d'origine chimique, les fabricants de produits alimentaires utilisent de plus en plus les techniques de bioconservation, qui sont basées sur l'activité antimicrobienne naturelle associée à des souches bactériennes agissant comme des cultures protectrices. Ces cultures exercent une action antagoniste sur la croissance des micro-organismes indésirables grâce à la production de bactériocine [12]. DE VUYST et VANDAMME [6], définissent les bactériocines comme étant des substances peptidiques (ou protéines) produites par certaines bactéries et qui ont un effet inhibiteur sur d'autres bactéries.

Au Sénégal, les travaux de DIOP et al. [7] sur la sélection de bactéries lactiques à partir de produits halieutiques transformés artisanalement, ont permis d'isoler une souche productrice de bactériocine, la souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410, qui porte le gène codant pour la nisine A. Selon cette étude, la souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B-1410 a une importante activité bactéricide dans le surnageant de culture neutralisé (SCN). Cependant, les conditions de culture de *Lactococcus lactis* dans le milieu Man Rogosa Sharpe (MRS) standard ne permettent pas toujours d'avoir une meilleure production de bactériocine.

Cette étude s'est intéressée à l'optimisation des conditions de culture de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 par la variation des principaux constituants du milieu tels que la quantité de glucose et/ou la matière azotée dans un litre de milieu de culture, afin d'évaluer l'effet antimicrobien du surnageant de culture sur différents filets de sole limande (*Syacium guineensis*).

Matériel et Méthodes

1. PRÉPARATION DU MILIEU DE CULTURE MODIFIÉ

L'étude a été réalisée au Laboratoire de Microbiologie Appliquée et de Génie Industriel (LMAGI) de l'Ecole Supérieure Polytechnique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar. Elle consiste à utiliser un surnageant de culture de bactéries lactiques pour prolonger la durée de conservation du poisson à 4° C. Le milieu MRS standard et un milieu MRS modifié ont été utilisés pour cultiver la souche de *Lactococcus lactis* dans les mêmes conditions. Pour déterminer la composition du milieu MRS modifié, tous les composants chimiques du milieu MRS standard ont été fixés dans un premier temps et seule la concentration en glucose a été variée. Dans une deuxième phase, tous les composants chimiques du milieu MRS standard ont été fixés et seules les concentrations des matières azotées ont été variées.

Pour évaluer l'influence de la concentration du glucose sur la production de la biomasse, 1ml d'inoculum de *Lactococcus lactis* CWBI 1410, a été ajouté aseptiquement à sept fioles F1, F2, F3, F4, F5, F6 et F7 contenant 100 ml de bouillon MRS de concentrations différentes en glucose. La fiole F3 contient du MRS standard (20 g/L de glucose), F1, F2, F4, F5, F6 et F7 contiennent respectivement 10, 15, 30, 40, 60, 80 g/L de glucose. Les fioles ont été incubées à 30°C et un suivi de la croissance cellulaire a été effectué sur une période de 30 heures avec une séquence de prélèvement toutes les 5 heures.

Afin d'évaluer l'influence de la concentration de la matière azotée (peptone de caséine, extrait de levure et extrait de viande) sur la production de la biomasse de *Lactococcus lactis*, les mêmes expériences sont réalisées avec des concentrations en matière azotée de 10, 20 (MRS standard), 40 et 60 g/L. Le suivi de la croissance bactérienne a été effectué grâce à la mesure de la densité optique (D.O.) par le spectrophotomètre Helios TM Gamma UV-Vis (Wavelength range 190-1100nm).

A l'issue des essais, les concentrations de glucose et de matière azotée qui ont donné les meilleurs résultats c'est-à-dire favorisant mieux le développement de la bactérie lactique ont été choisies pour la composition du milieu MRS modifié.

2. CULTURE DE LA SOUCHE LACTIQUE ET PRÉPARATION DU SURNAGEANT

La souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 utilisée pour la culture protectrice présente une activité antibactérienne de type bactéricide. Elle a été isolée à partir de produits céréaliers, d'origine sénégalaise et de transformation artisanale [7]. Conservée à -80 °C sur billes, la souche a été repiquée sur gélose de Man, Rogosa, Sharpe (MRS). Deux colonies de la souche ont été inoculées dans un tube contenant 10 ml de bouillon MRS standard puis incubé pendant 12 heures à 30 °C. Un (1) ml de cette pré-culture a été utilisé pour inoculer 100 ml de bouillon MRS standard contenant (20 g/l de glucose et 20 g/l de matière azotée) et 100 ml de bouillon MRS modifié (15 g/l de glucose et 40 g/l de matière azotée). Les deux cultures ont été incubées à 30 °C pendant 24 heures. La centrifugation (Centrifugeuse Sigma 3-16 PK, Fisher, Germany) de la culture à 10 000 rpm pendant 15 minutes a permis de récupérer le surnageant de culture. Le pH (pHmètre 5/6, EcoScan®, Eurotech Instruments, Singapore) du surnageant acide (environ 4,2), a été ajusté à 6,2 par ajout d'une solution de NaOH 5N. Les surnageants de culture neutralisés ont été traités au Bain marie à 80 °C pendant 15 minutes afin d'éliminer éventuellement toute trace de *Lactococcus lactis*. Ils ont ensuite été refroidis à température ambiante (environ 25 °C) pendant 1 heure avant d'imprégner les filets. Les analyses ont porté sur trois (3) lots de filets, un lot témoin (sans surnageant), un lot traité avec le surnageant issu du milieu MRS standard et un lot traité avec le surnageant du milieu MRS modifié.

3. ÉCHANTILLONNAGE ET FILETAGE DU POISSON

Les prélèvements qui ont servi à réaliser cette étude ont été effectués au niveau de la plage de Ouakam, située dans la banlieue dakaraise et très représentative de la pêche artisanale au Sénégal. Le poisson étudié (sole limande) a été acheté auprès des fournisseurs sur place lors des débarquements et conditionné dans des sachets stériles et conservé dans une glacière. Immédiatement après prélèvement, les poissons ont été pelés, éviscérés, lavés sur place et placés dans des emballages stériles puis conservés au frais dans une glacière. Aussitôt après, ils ont été transportés au laboratoire où ils ont été lavés à l'eau du robinet, puis filetés stérilement. Trois (3) lots de filets de 100 g chacun ont été utilisés pour la réalisation des essais.

4. APPLICATION DES SURNAGEANTS AU FILET

Le premier lot de filet qui a servi de témoin n'est imprégné d'aucun surnageant. Dans le deuxième lot, 100 millilitres de surnageant de bouillon MRS standard ont été ajoutés dans 100 grammes de filets de poisson et le tout est placé dans un sachet stomacher stérile. Enfin Le troisième lot a subi le même traitement que le deuxième avec le surnageant issu du bouillon MRS modifié.

Les lots traités aux surnageants et le lot témoin ont été conservés au réfrigérateur à 4 °C. Un suivi de l'évolution de la flore mésophile aérobie dans les trois lots permet de vérifier l'effet antibactérien des surnageants de culture neutralisés.

5. PRÉPARATION DES PRISES D'ESSAIS ET DÉNOMBREMENT DE LA FLORE MÉSOPHILE AÉROBIE

La flore mésophile aérobie à 30°C a été dénombrée sur gélose pour dénombrement des micro-organismes aérobies totaux (PCA : Plate Count Agar). La solution mère pour les besoins des dilutions décimales a été préparée en ajoutant 90 ml d'eau peptonnée stérile à 10 g. de filet traité avec le surnageant neutralisé ou avec le filet seul. Ce mélange qui correspond à la prise d'essai a été vigoureusement broyé pendant 1 minute à l'aide d'un vortex. A partir de la prise d'essai il a été effectué des dilutions décimales. Pour chaque lot, 1 ml de la prise d'essai et de ses dilutions a été ensemencé au moment de l'analyse dans deux boîtes de pétri distinctes (l'ensemencement en double). Les boîtes sont ensuite placées à 30 °C et les unités formant colonies sont comptées au bout de 48 heures d'incubation. Le résultat final est exprimé en nombre « d'Unité Formant colonies » (UFC) par gramme de produit analysé. Les résultats des analyses microbiologiques sont calculés à partir de la formule classique suivante utilisée par DIOP [7], dans ses travaux :

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{mL} \times (n_1 + 0.1n_2) \times d_1}$$

N: nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial ; $\sum \text{colonies}$: sommes des colonies des boîtes interprétables ; V_{mL} : volume de solution déposé (1 ml) ; n_1 : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue ; n_2 : nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue ; d_1 : facteur de la première dilution retenue.

6. ANALYSE STATISTIQUE

Une étude de la dispersion du nombre de bactéries obtenues avec l'utilisation des deux surnageants de milieux de culture (MRS standard et MRS modifié) a été effectuée en supposant que le type de milieu de culture peut être utilisé comme variable indépendante dans un modèle de régression binomiale. L'étude de la distribution du nombre de bactéries suit donc une loi binomiale négative avec une déviance élevée. L'utilisation d'un modèle de régression binomiale négative nous semble la plus indiquée pour l'analyse des données. Ainsi, nous utilisons l'équation de la loi binomiale négative suivante :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha \text{ Milieu}_i + \beta \text{ jours}_j + \theta_{ijk}$$

Y_{ijk} = Nombre de bactéries k ; μ = intercept ; Milieu = milieu témoin / milieu MRS standard / milieu MRS modifié ; Jours = J_0, J_2, J_4, J_6 ; α, β , = Coefficients de régression ; θ_{ijk} = effet résiduel.

Les données ont été analysées avec le Logiciel R@version 3.0.1.

Résultats

1. ÉVOLUTION DE LA BIOMASSE EN FONCTION LA DE LA QUANTITÉ DE GLUCOSE

Les résultats obtenus après les essais de variation de la quantité de glucose en vue de déterminer la composition du milieu modifié sont représentés à la figure 1.

Les essais révèlent que la quantité de biomasse n'évolue pas proportionnellement à l'augmentation de la quantité de glucose. Cela est confirmé par les résultats obtenus avec la concentration de 80 g/L de glucose qui donne la plus faible concentration de biomasse sur les différentes étapes de dénombrement. Jusqu'à la 10ème heure, les courbes d'évolution de la biomasse dans les milieux contenant une concentration de 20, 30, 40, 60 et 80 g/L de glucose présentent la même allure et sont presque superposables. Les courbes obtenues avec les concentrations 10 et 15 g/L se superposent et atteignent plus rapidement la phase exponentielle de croissance avant la phase stationnaire. Cependant, ce n'est qu'à partir de la 30ème heure de culture que le milieu MRS préparé avec 20 g/L de glucose (concentration standard) présente la même quantité de biomasse que les milieux préparés avec 10 et 15 g/L. Ainsi, la concentration de 15 g de glucose par litre a été choisie pour la reconstitution du milieu MRS modifié destiné à améliorer la production de bactériocine sur la base de la biomasse obtenue.

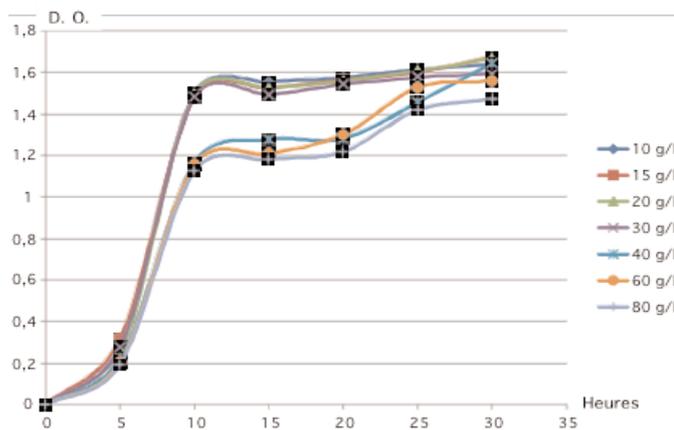


Figure 1 : Evolution de la biomasse en fonction de la concentration en glucose

2. ÉVOLUTION DE LA BIOMASSE EN FONCTION LA MATIÈRE AZOTÉE

Les essais en fioles F1, F2, F3, et F4, avec les concentrations respectives 10, 20, 40 et 60 g/L en matière azotée ont donné les résultats illustrés à la figure 2.

Du démarrage de la culture à la 9ème heure, les quatre courbes obtenues avec les différentes concentrations sont relativement confondues. Ce n'est qu'à la 12ème heure de culture que le milieu contenant 40 g/L de matière azotée donne des résultats nettement supérieurs aux autres. Il convient de noter également qu'une augmentation de la matière azotée ne favorise pas une bonne croissance de la souche de *Lactococcus lactis* CWBI 1410. Le Milieu MRS contenant 60 g/L de matière azotée donne des valeurs de biomasse largement inférieures à celles obtenues avec les concentrations 10, 20, et 40 g/L. En définitive, les concentrations de 15 g/l de glucose et 40 g/l de matière azotée ont été retenues pour reconstituer le milieu MRS modifié.

3. RÉSULTATS MICROBIOLOGIQUES DES TESTS D'INHIBITION

Le surnageant neutralisé de culture de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 obtenu à partir du milieu MRS reconstitué (15 g/l de glucose et 40 g/l de matière azotée) a permis d'effectuer des tests d'inhibition de la croissance bactérienne sur des échantillons de filets de sole. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau I.

Le tableau I montre l'évolution de la croissance de la Flore mésophile dans l'échantillon témoin et les 2 échantillons traités avec les surnageants de culture de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 cultivé dans du MRS simple et du MRS modifié (15 g/l de glucose et 40 g/l de matière azotée). Ces résultats montrent que malgré l'utilisation des surnageants de culture, on constate toujours la présence de germes vivants à des taux différents dans les essais. Il semble que la dégradation enzymatique des bactériocines est le facteur majeur limitant leur activité antimicrobienne dans les produits alimentaires et donc favorisant la reprise de croissance de la flore mésophile aérobie totale.

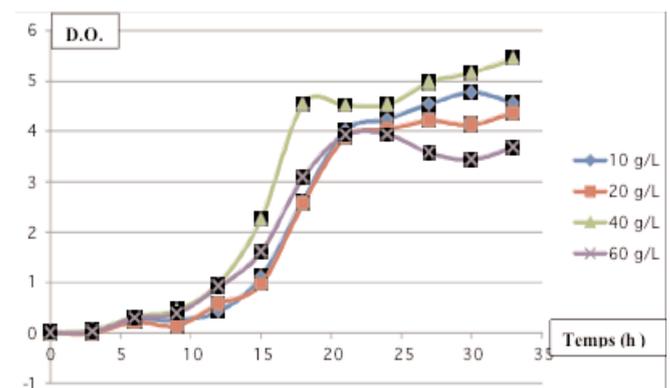


Figure 2 : Evolution de la biomasse en fonction de la concentration en matière azotée

4. COMPARAISON STATISTIQUE DES RÉSULTATS OBTENUS

L'analyse descriptive du nombre moyen de bactéries en fonction du type de milieu MRS de Jo à J6 montre que le nombre moyen de bactéries varie considérablement d'un milieu à l'autre (tableau II). Ce résultat confirme l'hypothèse selon laquelle le type de milieu de culture peut être utilisé comme variable indépendante dans un modèle de régression binomiale négative.

L'application de la régression binomiale négative montre que le modèle est globalement significatif. Le modèle indique une différence statistique significative entre le milieu témoin et les milieux MRS standard et MRS modifié.

Le modèle montre aussi que pour une unité de bactérie en croissance dans le milieu témoin, on note une diminution du nombre de bactéries (-1,04) dans le milieu MRS standard et de -1,27 bactéries dans le MRS modifié (tableau II). Autrement dit, le nombre de bactéries pour le milieu MRS standard est statistiquement plus faible que le nombre de bactéries dans le milieu témoin ($p < 0.001$). De même, le nombre de bactérie dans le milieu MRS modifié est statistiquement plus faible que le nombre de bactéries dans le milieu MRS standard ($p < 0.001$). Cela confirme l'hypothèse initiale, à savoir que le MRS modifié permet une meilleure inhibition des bactéries comparé au MRS standard.

Discussion

Le milieu utilisé pour les essais en fioles est le milieu MRS. C'est un milieu de culture très riche qui répond aux exigences des bactéries lactiques pour leur croissance et la production de leurs métabolites antimicrobiens telles que les bactériocines. La concentration de ce milieu en glucose et en matière azotée a été modifiée dans cette étude.

Les résultats des cultures menées en fioles suite à la variation de la quantité de glucose dans le milieu MRS montrent que pour toutes les concentrations de glucose utilisées, le profil de production de biomasse est relativement identique, mais cette similarité de production est plus prononcée avec les concentrations 10, 15 et 20 g/l de glucose. Les valeurs maximales de DO, après 30 heures de culture obtenues avec ces trois concentrations sont respectivement 1,64 ; 1,674 et 1,668. Ainsi, il ressort de cette étude, que la concentration de 15 g/l de glucose offrirait légèrement ou mieux les mêmes performances que le milieu MRS standard. Il convient cependant de constater qu'une augmentation du glucose n'entraîne pas forcément une croissance cellulaire optimale. MATARAGAS et al., [14] ont montré qu'une présence continue de carbone dans le milieu MRS lors de la culture est certes nécessaire mais la quantité de glucose n'est pas proportionnelle à la quantité de biomasse dans le milieu.

Tableau I: Flore mésophile aérobique totale en fonction du surnageant de culture neutralisé de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 utilisé (UFC/g).

Echantillon	Milieu utilisé pour les essais	Nbre de bactéries à j ₀	Nbre de bactéries à j ₂	Nbre de Bactéries à j ₄	Nbre de Bactéries à j ₆
Echantillon 1	0	12000	114000	1120000	5100000
Echantillon 2	0	13000	127000	850000	4900000
Echantillon 3	0	19000	116000	790000	6100000
Echantillon 4	0	17000	125000	1200000	6400000
Echantillon 5	0	15000	119000	980000	4600000
Echantillon 6	1	5300	52000	249000	1460000
Echantillon 7	1	7200	47000	218000	1380000
Echantillon 8	1	6500	42000	221000	1440000
Echantillon 9	1	5400	44000	251000	1530000
Echantillon 10	1	7100	45000	239000	1570000
Echantillon 11	2	5100	45000	217000	820000
Echantillon 12	2	6400	39000	226000	750000
Echantillon 13	2	6100	36000	222000	730000
Echantillon 14	2	5200	34000	230000	840000
Echantillon 15	2	5700	37000	215000	790000

Nbre = Nombre ; 0 = témoin (Sans MRS); 1 = MRS standard; 2 = MRS modifié; MRS = milieu Man Rogosa Sharpe

Tableau II : Résultats du modèle de régression binomiale négative de la variable nombre de bactéries, Dakar, 2013.

Variabes	Estimé	Erreur standard	Valeur de Z	P
Intercept	9,7901	0,1042	93,92	< 0,001
milieu témoin vs milieu MRS standard	- 1,0452	0,1042	-10,03	< 0,001
milieu témoin vs milieu MRS modifié	- 1,2777	0,1042	-12,26	< 0,001
Jour ₀ vs Jour ₂	1,9803	0,1204	16,45	< 0,001
Jour ₀ vs Jour ₄	3,7391	0,1204	31,06	< 0,001
Jour ₀ vs Jour ₆	5,3709	0,1204	44,62	< 0,001

Par ailleurs, l'augmentation de la quantité de glucose ne produit pas systématiquement un niveau de bactériocine élevé [11]. En effet, selon d'autres études, les facteurs de stress (sel, oxygène, compétition microbienne, etc.) peuvent influencer positivement la production de bactériocine chez les bactéries lactiques cultivées dans le MRS bouillon [15].

L'augmentation de la concentration en matière azotée (40 g/l) (figure 2) occasionne une augmentation de la production de biomasse de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410. La matière azotée a donc stimulé la croissance de la souche. Cela entraîne une augmentation de la production de bactériocine. Les résultats des cultures en fioles présentés dans la figure 2 montrent que la production de bactériocine par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 est étroitement associée à la croissance cellulaire. Cette association croissance-bactériocine a été précédemment observée dans des cultures productrices de nisine [10], de la leuconocine S [2] et de la sakacine A [19]. Selon CHEIGH et al., [4], il semble que la source de la matière azotée stimule la production de la bactériocine probablement par l'activation des enzymes de synthèse de la bactériocine.

Par contre, l'augmentation de la matière azotée à 80 g par litre semble freiner la production de biomasse et par conséquent, limiter la production de bactériocine par *Lactococcus lactis* CWBI B-1410.

VERLUYTEN et al., [18] ont pu démontrer que cet effet peut être attribué à la formation de substances toxiques pour la cellule, lors de la stérilisation du milieu. Une étude de DE VUYST et al., [5] explique ce phénomène par une régulation de l'expression des gènes responsables de la production de bactériocine.

En 2006, les travaux de GHALFI [8] sur la souche de *Lactobacillus curvatus* ont montré que la production de bactériocine ne dépend pas uniquement de la composition du milieu de culture mais aussi de la technique d'alimentation des substrats et semble être significativement améliorée en culture fed-batch à débit variable.

Toutefois, les résultats obtenus dans cette étude, pourront être améliorés avec la technique de fermentation continue qui assure non seulement une alimentation continue des nutriments mais également une élimination continue des éventuels composés inhibiteurs.

Les résultats des essais de surnageants de culture sur la flore microbienne des échantillons de filet, ont montré les limites de l'activité antibactérienne de la bactériocine. Plusieurs travaux portant sur la préservation des produits alimentaires par les bactériocines produites par plusieurs bactéries lactiques ont montré un effet bactéricide transitoire contre *Listeria monocytogenes* [3]. Un tel phénomène trouverait son explication par la présence de facteurs limitant l'activité de la bactériocine tels que : la faible production de bactériocine due à une carence en nutriments, le piège que constitue la matrice alimentaire pour la bactériocine, l'action de la matière grasse, des protéines, des sels, des protéases, etc. [16].

Conclusion

L'utilisation des surnageants de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 dirigé contre la flore indésirable et particulièrement contre la flore mésophile aérobie totale pourrait aboutir à son utilisation comme agent naturel pour une meilleure conservation des produits de la pêche. Cette application peut être développée grâce à une amélioration du milieu de culture. Cette étude a montré que la production de la biomasse et donc de la bactériocine par la souche de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 est influencée par la composition du milieu MRS en matière azotée (40 g/l) et que la quantité de glucose proposée dans le milieu standard peut être revue à la baisse jusqu'à 15 g/l pouvant entraîner ainsi des économies. Les concentrations très élevées de glucose et de matière azotée n'entraînent nécessairement pas une augmentation de la biomasse. Pour des raisons économiques et dans le souci d'éviter le coût élevé de la matière azotée utilisée dans la préparation du milieu MRS, GUERRA et al., [9] ont proposé l'utilisation de certains déchets de l'industrie alimentaire comme constituants de milieux de culture, pour la reformulation du milieu MRS dans la production des bactériocines. Cette approche sera expérimentée dans nos prochains travaux.

Bibliographie

- 1 - **ABGRALL B., 1988.** Poissons et autres produits de la mer. In : Microbiologie alimentaire, aspects microbiologiques de la sécurité et de la qualité alimentaire. Vol 1, Tec et Doc (Ed), Lavoisier, Paris. Pp 251-264.
- 2 - **BAKER R.C., WINKOWSKI K. et MONTVILLE T.J., 1996.** PH-controlled fermentors to increase production of leuconocin S by *Leuconostoc paramesenteroides*. Proc. Bioch. 31: 225-228.
- 3 - **BHATTI M., VEERAMACHANANI A. et SHELEF L.A., 2004.** Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk. Int. J. of Food Microbiol. 97: 215-219.
- 4 - **CHEIGH C.I., CHOI H.J., PARK H., KIM S.B., KOOK M.C., KIM T.S., HWANG J.K. et PYUN Y.R., 2002.** Influence of growth conditions on the production of a nisin-like bacteriocin by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 isolated from kimchi. J. of Biotech. 95: 225-235.
- 5 - **DE VUYST L., CALLEWAERT R. et CRABBÉ K., 1996.** Primary metabolite kinetics of bacteriocin biosynthesis by *L. amylovorus* and evidence for stimulation of bacteriocin production under unfavourable growth conditions. Microbiol. 142: 817-827.
- 6 - **DE VUYST L. et VANDAMME E.J., 1994.** Editors. Bacteriocins of lactic acid bacteria: Microbiology, genetics and applications. London: Blackie Academic and Professional: 151-221.
- 7 - **DIOP M.B., TINE E., NGOM E.H.A., DUBOIS DAUPHIN R., DESTAIN J. et THONART P., 2007.** Selection of bacteriocin-producing LAB from traditional fermented food from Senegal. Biotech., Agro., Soc. and Env. 11 (4) 275-281
- 8 - **GHALFI H., 2006.** Sélection et utilisation de bactéries lactiques productrices de bactériocines antilisteria comme bio-conservateur et caractérisation de trois bactériocines produites par *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28. Thèse de Doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique, 330p.
- 9 - **GUERRA N.P., AGRASAR A.T., MACIAS C.L. et PASTRANA L., 2005.** Modelling the fed-batch production of pediocin using mussel processing wastes. Proc. Bioch. 40: 1071-1083.

- 10 - GUERRA N.P., RUA M.L. et PASTRANA L., 2001. Nutritional factors affecting the production of two bacteriocins from lactic acid bacteria on whey. *Int. J. of Food Microbiol.* 70: 267-281.
- 11 - KIM W.S., HALL R.J. et DUNN N.W., 1997. The effect of nisin concentration and nutrient depletion on nisin production of *Lactococcus lactis*. *App. Microbiol. and Biotech.* 50: 429-433.
- 12 - KOUAKOU P., GHALFI H., DESTAIN J., DUBOIS D.R., EVRARD P. et THONART P., 2008. Enhancing the antilisterial effect of *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 in pork meat and cocultures by limiting bacteriocin degradation. *Meat Sci.*, 80(3): 640-648
- 13 - LISTON J., 1980. Microbiology in fishery science. In: *Advances in Fishery Science and Technology*. J.J. Connell (Ed.), Fishing News Books, Farnham, England. Pp. 138-157.
- 14 - MATARAGAS M., METAXOPOLOUS J., GALIOTOU M. et DROSINOS E.H., 2003. Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. *Meat Sci.* 64: 265-271.
- 15 - NEYSENS P. et DE VUYST L., 2005. Carbon dioxide stimulates the production of amylovorin L by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471, while enhanced aeration causes biphasic kinetics of growth and bacteriocin production. *Int. J.I of Food Microbiol.* 105: 191-202.
- 16 - SCHILLINGER U., KAYA M. et LUCKE F.K., 1991. Behavior of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by a bacteriocin-producing strain of *Lactobacillus sake*. *J. of Applied Bacteriol.* 70: 473-478.
- 17 - SYLLA K.S.B. et SEYDI Mg., 2003. Etude de la qualité hygiénique du poisson utilisé en restauration collective universitaire à Dakar, (Sénégal). *RASPA* 1(1) : 17-23.
- 18 - VERLUYTEN J., LEROY F. et DE VUYST L., 2004. Influence of complex nutrient source on growth of and curvacin A production by sausage isolate *Lactobacillus curvatus* LTH 1174., *App. and Env. Microbiol.* 70: 5081-5088.
- 19 - YANG R. et RAY B., 1994. Factor influencing production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *Food Microbiol.* 11: 281-291.



ARTICLE III**Modeling the dynamics of growth of *Lactococcus lactis* CWBI-B1410: effect of changes in glucose and nitrogenized matter in the MRS culture media.****ABSTRACT**

Nowadays, industrials take more interest on the behavior of microorganisms in food. So, many mathematical models of the growth of bacteria were proposed by researchers in recent years. Lactic acid bacteria are studied for food preservation. This survey was interested on the bioconservation of fish by the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* CWBI-B1410. The main objective of this study was to propose a mathematical model of the dynamics growth of *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 by varying the concentration of glucose and nitrogenized matter. The results of this study showed that the mathematical model predicts the growth of *Lactococcus lactis* CWBI-B1410. The curves that are predicted are exactly those that can be observed experimentally. The results also show that for two tests with the same amount of nitrogenized matter it is possible to achieve economies of scale in glucose while maintaining the same biomass performance.

Keywords: *Mathematical models, lactic bacteria, Lactococcus lactis CWBI-B1410, glucose, nitrogenized matter.*

1. INTRODUCTION

Quality control, and microbiological safety of products and processes, is nowadays a major issue in the food industry. In order to describe the behavior of microorganisms in foods and in particular for their growth based on key ecological food characteristics, many mathematical models have been proposed in the literature during the recent years.

At laboratory, bacterial populations of many species, including lactic acid bacteria, lend themselves easily to the evaluation measurements of their size depending on culture conditions (Augustin, 1999). Similarly, Delhalle's work (2012) showed that it is relatively easy and inexpensive to experimentally validate the theoretical models that can be built to predict and quantify the effects of experimental conditions on microbial growth. According to Maoura et al.(2006), the modeling activities are now operational and available to producers thanks to the identification and use of equations that link the growth parameters to the environmental factors.

Comparing the adjustment of primary models on laboratory data has been the subject of several studies (Baranyi, 1997; Buchanan and *al.*, 1997; Lopez and *al.*, 2004; Pal and *al.*, 2008). Currently, it is not possible to select a particular model to represent the most appropriate bacterial growth. The simplest models can often be sufficient to properly represent the basic parameters of growth.

The first primary growth model in predictive microbiology described by Buchanan in 1918 is a model that describes the exponential phase, but does not take into account the latency phase or the stationary phase. However, it can be used in a first approach to assess the evolution of the number of bacteria.

An alternative to the exponential model is the use of the three phase linear model proposed by Buchanan et *al.* (1997), corresponding to the exponential model taking into account the reaction time and the deceleration phase where $N(t)$ corresponds to the number of cells at time (t) . Delhalle et *al.* (2012) described the exponential growth phase which appears in the form of a linear portion when the evolution of the depending on time is represented. For a given bacterium, the value of this maximum growth rate depends on the characteristics of the culture medium. When the microbial concentrations are expressed in semi logarithmic coordinates in function of time, the slope of the line represents the maximum specific growth rate, μ_{max} (h⁻¹) (Fahimi, 2012). In 2005, Miconnet et *al.*(2005) had proposed thinking about the uncertainty growth parameters obtained from data collected during tests of growth.

Senegal is known today for its high level of production of sea products. However, the socio-economic constraints hinder the development of the industrial conservation of catches (Diei-

Ouadi, 2005). The artisanal nature of production poses problems related to safety and toxic substances affecting the organoleptic quality and health products (Diop *et al.* 2008). Diop's work in 2008, helped develop bioconservation of fishery products by using a strain of *Lactococcus lactis* isolated from cereals in Senegal. Thus, this work seeks to improve the performance of biomass production by *Lactococcus lactis* by testing different concentrations of glucose and nitrogenous matter. The general approach used in this study to model the behavior of *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 is divided into two phases as followed:

It will first be proposed a mathematical model to support the efficacy of *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 for bioconservation incorporating the influence of glucose and nitrogenous matter on the growth of bacteria, and second, to compare growth rates obtained from different culture medium of MRS Proposed.

2. PLACE OF THE STUDY, MATERIALS AND METHODS

• Place of study

The research work of this study was conducted in the laboratory of Applied Microbiology and Industrial Engineering of the Higher Polytechnic School of the University Cheikh Anta Diop.

• Materials

Two types of substrates were used: glucose and nitrogenous matter. The nitrogenized matter was provided by yeast extract, meat extract and casein peptone.

The equipment used consisted of laboratory glass ware, a spectrophotometer, a drying oven at 30°C, Petri dishes, the spectrophotometer Helios TM Gamma UV-Vis (Wavelength range 190-1100nm).

• Preparation of the culture medium

Culture medium used in this work is the MRS broth at different concentrations of glucose and nitrogenous matter. The pH of the culture medium was adjusted to a value of 6.6 by addition of sulfuric acid (1N). The media were then divided into tubes (10 ml/ tube) and then autoclaved for 15 minutes at 120 °C.

• Preparation of the inoculum

The strain used in this study was *Lactococcus lactis* CWBI-B1410. It is a strain of the laboratory collection of Bio-industries Wallonia Center of Industrial Biology in Belgium. It was revived by two subcultures MRS liquid medium and stored at a temperature of 4° C in

tubes called conservation tubes containing MRS agar. From culture on slant MRS agar, were removed some colonies to be transferred into a tube with 10 ml of MRS liquid medium and incubated at 30 °C for 24 hours. This step allows the reactivation of the strain.

After 24 hours of incubation, 1 ml of this preculture is aseptically introduced into an Erlenmeyer flask with a capacity of 250 ml containing 100 ml of MRS liquid medium and incubated at 30 °C for 40 hours with agitation.

- **Analytical Methods**

The total biomass concentration is determined by measuring the absorbance. The optical density of biomass (**OD**) was determined by using a spectrophotometer TM Gamma UV-Vis (Wavelength range 190-1100nm).

Dieng and *al's* work. (2013) showed that the best yields provided by *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 are obtained with combinations of different concentrations of glucose and nitrogenized matter (Table I).

Table I: Various combinations of concentrations of glucose and nitrogenized matter

	Glucose gram. / liter MRS	g. N.M. / liter MRS
1	15	20
2	20	20
3	20	40
4	15	40

G: glucose, N. M.: nitrogenized matter

These associations were then tested and mathematical models were proposed by determining the equation for each association. The data we reanalyzed with the help of the ORIGIN7 software.

The evolution of the biomass concentration was evaluated by measuring the optical density at 620 nm. The OD values obtained were used to establish equation (1) below with the ORIGIN7 software.

$$Y = A_2 + \frac{(A_1 - A_2)}{\left(1 + e^{\frac{x - x_0}{dx}}\right)} \quad (1)$$

Y = Optical Density

A_1 = initial. O.D. value

A_2 = final O.D. value

X = the time elapsed

x_0 = the x value corresponding to halfway between A_1 and A_2 ($y(x_0) = (A_1 + A_2)/2$)

dx = the size of the value span in x that has the largest variation in O. D.

To understand biological phenomena, more precisely the kinetics of growth and biomass production by *Lactococcus lactis* CWBI-B1410, we tried to translate the experimental results by a mathematical model using software "ORIGIN" which is based on the method of least square.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Although the shape of the observed kinetics is simple, the construction of a model describing the overall kinetics of growth is not a trivial problem (El Hajji, 2010). Thus, many primary models have been developed to represent the growth of microbial population. The most commonly used models in predictive microbiology to estimate growth parameters from observed data models are the exponential model, the logistic model and the Monod model (ElHajji, 2010), which are at the origin of the most modeling he past 60 years.

The aim of our study was to evaluate the effect of different combinations of glucose and nitrogenous matter on the growth of *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 and to study if the concentrations of glucose and nitrogenous material vary, number of bacteria vary from one association to another and to establish a mathematical model.

Equation (1) made it possible to draw the Figure 1 curves.

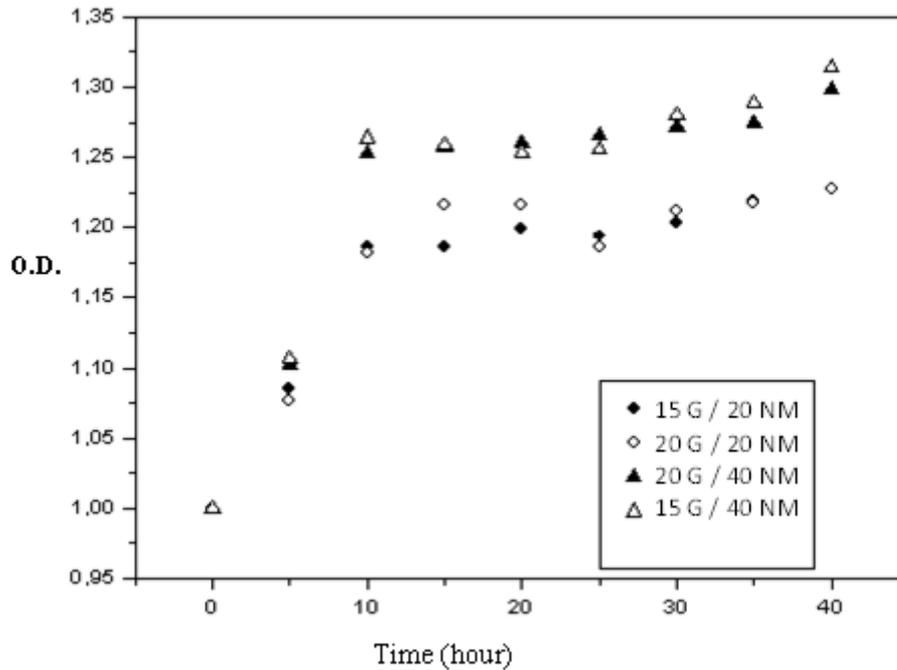


Figure 1: Biomass evolution in function of time at different concentrations of glucose and nitrogenized matter.

The biomass measurements performed showed very similar trends for different situations.

Figure 1 clearly shows a startup culture at the fifth hour. The four different biomasses obtained have almost superimposed curves. It was also noted that the MRS media with a concentration of 40g/ l crude protein have a higher biomass compared with the areas that contain 20 g / l. At the 10th hour, the curves corresponding to associations 15 G / 20 N.M. and 20 G / 20 N.M. have D.O. nearby 1.2 while the curves corresponding to 15 g/40 N.M. and 20 G / 40 N.M., which look better, have an O.D. of about 1.30 despite the fact that all cultures are seeded with cells in the same physiological state and at the same time.

Moreover, from 10th hour of culture, bacteria *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 seems to start the stationary phase for all tests.

At 40th hour, Figure 1 shows that the best growth is presented by the MRS medium 15G/40 N.M. followed by MRS medium 20 G/40 N.M. reaching respectively an OD value of 1.32 and 1.30.

Mataragas and *al.* showed that continuous presence of carbon in the MRS medium during culture is necessary but the amount of glucose is not proportional of the amount of biomass in the culture medium. Moreover, increasing the amount of glucose does not necessarily produce a high level of bacteriocin (Kim, 1997).

According to studies, stressors (salt, oxygen, microbial competition, etc.) can positively influence the production of bacteriocin in lactic acid bacteria grown in MRS broth (Neysens and *al*, 2005).

The linear representation of exponential growth phases of the four curves of growth is shown in Figure 2.

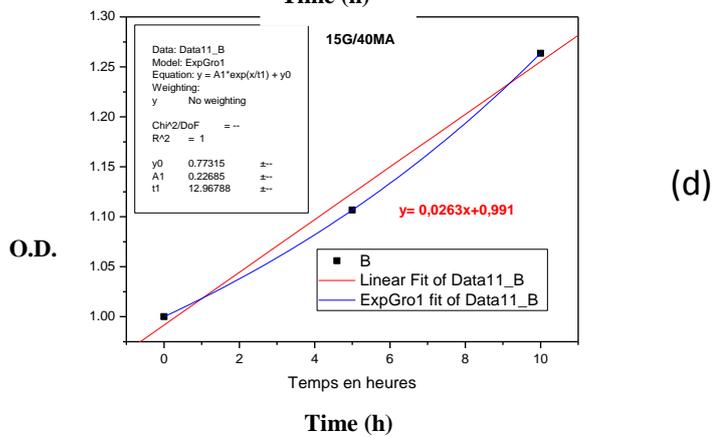
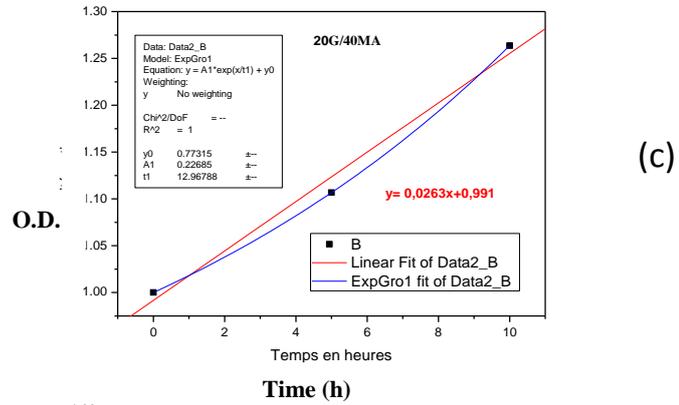
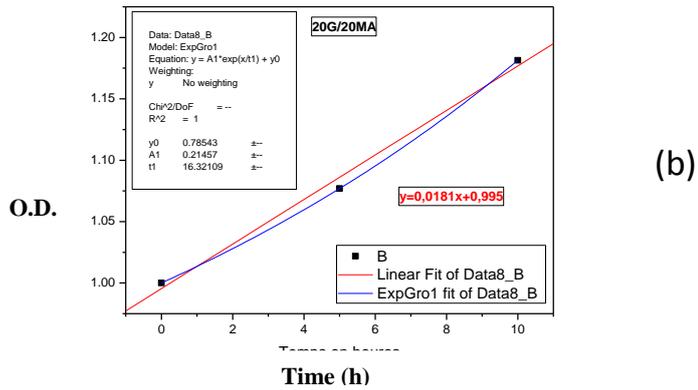
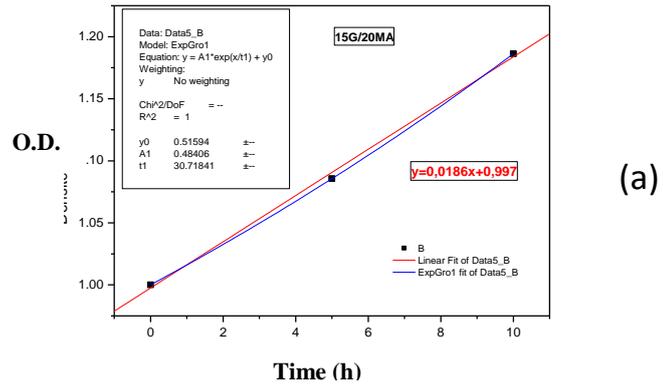


Figure2: Linear representation of the exponential phase in *Lactococcuslactis*CWBI-B1410 at different concentrations of glucose and in nitrogenous materials per time.

At first glance, the maximum rate of growth early in culture decreases as long as the production of biomass is underway. However, a determination of the linear straight at the exponential phase identified equations of the form ($y= ax+ b$) to compare the growth rates of the four curves. Exponential phase of growth curves of different combinations are shown in (a), (b), (c) and(d).

- (a) 15 G / 20 N.M. equation : $y=0,0186 x + 0,997$
- (b) 20 G / 20 N.M. equation : $y=0,0181 x + 0,995$
- (c) 20 G / 40 N.M. equation : $y=0,0263 x + 0,991$
- (d) 15 G / 40 N.M. equation : $y=0,0263 x + 0,991$

The curves produced from tests (a) and (b) have the same growth rates and those obtained with the tests (c) and (d) also have the same growth rate.

These findings are consistent with studies of Herbert et *al.*(1956) who were able to show that the mathematical system incorporates all known data on bacterial growth and curves that are predicted by numerically solving are exactly those that are observed experimentally. The results also show that for two tests with the same quantity of nitrogenized matter (a) and (b), (c) and (d), it is possible to achieve economies of glucose while maintaining the same performance biomass.

The kinetics of growth and the increase in nitrogened matter present a best fit by a single function called Boltzmann function where the correlation coefficient $R^2 \geq 0.97$. This value expresses a little error between reality and experimentation. According to the results, it was concluded that the biomass production by *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 on the MRS 15G/40 N.M. followed Luediking and Piret model: $y = \alpha\mu + \beta$ ($\alpha=0.0263$, $\beta =0.991$, $R^2 = 1$) which expresses that the growth and nitrogened material are tightly coupled.

CONCLUSION

Predictive microbiology has many potential uses and is about to become mainstream in a process of mastery of microbial hazards in a food chain.

The main objective of this study was to develop a mathematical model able to predict the evolution of a strain of lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 by varying two components of MRS culture medium, glucose and nitrogenous matter.

It appears from this work an increase in the amount of nitrogenous matter in the MRS medium greatly improves the growing conditions of *Lactococcus lactis* CWBI-B1410.

To increase the interest of such a model, the effect of pH conditions should be integrated. In future work, the significance of the effect of inoculum size on the length of the lag phase will be also assessed.

Finally, for more profitable production, it is important to consider the use of another less expensive source of nitrogenous material.

REFERENCES

1. Augustin J. C. 1999. Modélisation de la dynamique de croissance des populations de *Listeria monocytogenes* dans les aliments. Thèse de Doctorat à l'université Claude Bernard – Lyon. I. N° d'ordre 314-99 Année 1999.
2. Baranyi J., 1997. Simple is good as long as it is enough. *Food Microbiol.* 14: 391-394.
3. Buchanan R.E., 1918. Life phases in a bacterial culture. *J Infect Dis*, 23, 109-125.
4. Buchanan R.L., Whiting R.C. and Damert W.C., 1997. When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. *Food Microbiol* 14:313-326.
5. Delhalle L., Daube G., Adolphe Y., Crevecoeur S. and Clinquart A., 2012. Les modèles de croissance en microbiologie prévisionnelle pour la maîtrise de la sécurité des aliments. *Biotechnol Agron Soc Environ* 2012 16(3), 369-381.
6. Diei-Ouadi Y., 2005. Minced sardinella fillets in fishlanding and marketing sites in Senegal. In: *FAO fisheries Circular no 999: FIIU/C999 (EN)*. Roma: FAO.
7. Dieng M., Mbengue M., Kone P.S., Ndiaye K., Tine E., Balde M. et Kane N.C.T., 2013. Bioconservation des filets de sole limande frais (*Syacium guineensis*) au Sénégal par utilisation de la souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410. *Rev. Afr. de Santé et de Prod. Ani. Vol.11 N01*, 31-36.
8. Diop M.B., Destain J., Tine E., et Thonart P., 2010. Les produits de la mer au Sénégal et le potentiel des bactéries lactiques et des bactériocines pour la conservation. *Biotechnol Agron Soc Environ* 14(2), 341-350.
9. El hajji M. 2010. Modélisation et analyse mathématiques pour les écosystèmes microbiens - approche par les systèmes dynamiques. Thèse de Docteur en Sciences de l'Université Montpellier II. Discipline : Mathématiques.
10. Fahimi N., 2012. Étude des interactions entre bactéries lactiques œnologiques *Oenococcus oeni*. Analyses cinétiques et modélisation. Doctorat de l'Université de Toulouse.
11. Herbert D., Elsworth R. *et al.* 1956. - The continuous culture of bacteria: a theoretical and experimental study. *J. gen. Microbiol*, 14, 601 - 622.
12. Kim W.S., Hall R.J. AND Dunn N.W., (1997). The effect of nisin concentration and nutrient depletion on nisin production of *Lactococcus lactis*. *App. Microbiol. and Biotech.* 50: 429-433.
13. Mataragas M., Metaxopolous J., Galiotou M. and Drosinos E.H., (2003). Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. *Meat Sci* 64: 265-271.
14. Leistner L., Rodel W., 1976. The stability of intermediate moisture food with respect to micro-organisms. In: *Intermediate Moisture Foods*. Davies R. Birch G.G. Parker, K. J. (Ed.) *Appl sci Publ London*, UK. P. 120-137.
15. Lopez S., Prieto M., Dijkstra J., Dhanoa M.S. and France J., 2004. Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth. *Int J Food Microbiol* 96: 289-300.
16. Luning P.A., Devlieghere F. & Verhé R., 2007. *Safety in the agri-food chain*. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic.
17. Miconnet, C., Geeraerd, A.H., Van Impe, J.F., Rosso, L. and Cornu, M., 2005. Reflections on the application of primary models to describe challenge tests conducted in/on food products. *International Journal of Food Microbiology*. 104 (2), 161–177.
18. Monod J., Pardee A.B. & Jacob F., 1958. L'expression et le rôle des allèles "inductible" et "constitutif" dans la synthèse de la β -galactosidase chez des zygotes d'*Escherichia coli*. *C. R. Acad Sci* 246(21):3125-3128.

19. Maoura N., Mbaiguinam M., Gaillardin C. et Pourquoiie J., 2006 «Suivi technique, analytique et microbiologique de la «bili bili», bière traditionnelle tchadienne». *Afrique Science* 2006, Vol.2, N°1.
20. Neysens P. and DE Vuyst L., 2005. Carbon dioxide stimulates the production of amylovorin L by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471, while enhanced aeration causes biphasic kinetics of growth and bacteriocin production. *Int. J. of Food Microbiol.* 105: 191-202.
21. Pal A., Labuza T.P. & Diez-Gonzalez F., 2008. Comparison of primary predictive models to study the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and turkey product slurries. *Food Microbiol*, 25 (3), 460-470.
22. Penfold, W. J., (1914). On the Nature of bacterial Lag. *Journal of Hygiene*, xiv. 215.

2. DISCUSSION GENERALE

L'objectif fixé dans ce travail était de parvenir à une contribution significative dans l'étude de la bioconservation de filets de poisson par l'amélioration des conditions de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 à travers son surnageant de culture neutralisé.

Les études sur l'application des surnageants de culture de bactéries lactiques comme conservateurs biologiques dans les aliments ont montré plusieurs avantages. Dans les travaux de Thomas et *al.* (2000), il a été démontré que grâce aux surnageants de culture de bactéries lactiques, la durée de conservation des aliments a pu être prolongée et la transmission de maladies par la chaîne alimentaire a été réduite.

Les résultats obtenus montrent une évolution de la flore mésophile dans les trois essais mais à des niveaux différents. Dans l'essai témoin, la flore bactérienne évolue très rapidement durant la période d'incubation à 4°C. Cela est dû au fait qu'aucune substance bactéricide ou bactériostatique n'est ajoutée au filet. S'agissant des filets traités avec des surnageants de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 sur milieu MRS standard et sur milieu MRS modifié, la flore microbienne est moins importante après 6 jours de conservation à 4°C. Les résultats obtenus avec le MRS modifié laissent apparaître un taux de flore nettement inférieure qu'avec le milieu MRS standard. Ainsi, il ressort de ces essais qu'une reconstitution du milieu MRS avec un doublement de la quantité de matière azotée favorise l'inhibition du développement bactérien dans les échantillons de filet gardés à 4°C. Cependant, il faut noter que l'utilisation à lui seul du surnageant de culture de *Lactococcus lactis* cultivé dans le milieu MRS à 40 g de matière azotée ne suffit pas pour stopper le développement. Par contre il a l'avantage de prolonger le temps de conservation du poisson. Des études sur l'application des surnageants de culture de bactéries lactiques comme conservateurs biologiques dans les aliments ont montré plusieurs avantages. Dans les travaux de Thomas et *al.* (2000), il a été démontré que grâce aux surnageants de culture de bactéries lactiques, la durée de conservation des aliments a pu être prolongée entraînant ainsi une réduction de la transmission de maladies par la chaîne alimentaire. Ces travaux ont entraîné également la réduction des pertes économiques liées à la dégradation bactérienne. D'autres auteurs ont montré que c'est grâce à la production de bactériocine principalement que les aliments ont pu être conservés pendant une période limitée. Ainsi, les travaux de Bhatti et *al.* (2004) portant sur la préservation des produits alimentaires par les bactériocines produites par plusieurs bactéries lactiques ont montré un effet bactéricide transitoire contre *Listeria monocytogenes*. Un tel phénomène devrait son explication à la présence de facteurs qui limitent l'activité de la bactériocine, tels que la faible production de bactériocine due à une

carence en nutriments, le piège que constitue la matrice alimentaire pour la bactériocine et l'action de la matière grasse, des protéines, des sels et des protéases.

Des résultats similaires relatifs à l'inhibition de *Listeria monocytogenes* sur la chair de crabes ont été publiés par Degnan et *al.* (1994). Ces travaux révèlent que l'imprégnation de la chair de crabes préalablement déshydratée (par pression) pendant 30 à 60 secondes avec une solution de Alta 2341 (pédiocine), de nisine ou de surnageant de culture bactéricide de *Enterococcus faecium*, permet d'inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes* dans le produit au cours de la conservation pendant 6 jours à 4°C.

D'autres travaux ont pu montrer les limites de l'utilisation seule de surnageant de culture. C'est pourquoi les acteurs de l'agroalimentaire (chercheurs et industriels) ont privilégié l'action combinée de différents processus et méthodes de conservation avec l'addition de produits chimiques pour inhiber la croissance microbienne. Cette technologique a été appliquée pour la première fois par Leistner et *al.* en 1978. Il stipule que la sécurité microbienne, la stabilité ainsi que la qualité sensorielle et nutritionnelle des aliments sont meilleures lorsque celles-ci sont basées sur l'application combinée de conservateurs que les micro-organismes présents dans les denrées alimentaires sont incapables de surmonter. DIOP et *al.* (2007) ont pu montrer, qu'en additionnant du NaCl (14 mg / ml) au surnageant de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 sur milieu MRS standard il était possible d'améliorer les conditions de conservation du poisson à 10°C. La souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 a été cultivée dans un milieu MRS standard et un milieu MRS modifié et les surnageants de culture ont été utilisés pour traiter du filet de poisson. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 11.

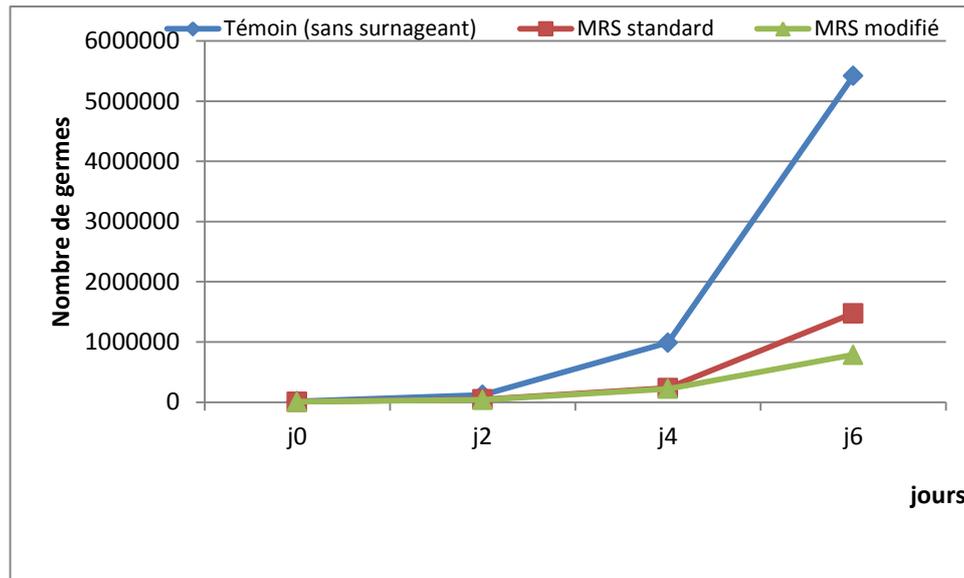


Figure 11: Evolution de la flore mésophile aérobie totale dans les filets de sole traités avec les surnageants de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410.

Le milieu MRS a été développé pour favoriser une bonne croissance des bactéries lactiques (De Man et *al.*, 1960). Puisqu'elles sont des microorganismes exigeants, la croissance de certaines souches est souvent inhibée par certains éléments nutritionnels (Leroy et De Vuyst, 2001).

Les essais révèlent que la quantité de biomasse n'évolue pas proportionnellement à l'augmentation de la quantité de glucose. Cela est confirmé par les résultats obtenus avec la concentration de 80 g/L de glucose qui donne la plus faible concentration de biomasse sur les différentes étapes de dénombrement. Jusqu'à la 10^{ème} heure, les courbes d'évolution de la biomasse dans les milieux contenant une concentration de 20, 30, 40, 60 et 80 g/L de glucose présentent la même allure et sont presque superposables. Les courbes obtenues avec les concentrations 10 et 15 g/L se superposent et atteignent plus rapidement la phase exponentielle de croissance avant la phase stationnaire. Cependant, ce n'est qu'à partir de la 30^{ième} heure de culture que le milieu MRS préparé avec 20 g/L de glucose (concentration standard) présente la même quantité de biomasse que les milieux préparés avec 10 et 15 g/L. Ainsi, la concentration de 15 g. de glucose par litre a été choisie pour la reconstitution du milieu MRS modifié destiné à améliorer la production de bactériocine sur la base de la biomasse obtenue.

L'étude montre que l'augmentation de la concentration initiale de matière azotée à 40 g/l occasionne une augmentation de la biomasse. Une association croissance-bactériocine a été

précédemment observée dans des cultures productrices de nisine (Guerra et *al.*, 2001), de la leuconocine S (Baker et *al.*, 1996), de la sakacine A (Yang et Ray, 1994) et de la bavaricine (Kaiser et Montville, 1993). Cependant, les travaux de Mataragas et *al.*, en 2003 démontrent qu'une croissance cellulaire optimale ne produit pas forcément un taux de bactériocine élevé. De même, des études de Ghalfi et *al.* (2008) montrent que la production ne dépend pas uniquement de la composition du milieu de culture mais aussi de la technique d'alimentation des substrats et semble être significativement améliorée en culture fed-batch à débit variable. Selon Cheigh et *al.* (2002), il semble que la source de la matière azotée stimule la production de la bactériocine probablement par l'activation des enzymes de synthèse de la bactériocine. Il convient de noter qu'une augmentation de la concentration en matière azotée (80 g par litre) limite la production de la bactériocine. Cet effet peut être attribué soit à la formation de substances toxiques pour la cellule, lors de la stérilisation du milieu (Verluyten et *al.*, 2004) soit à une régulation de l'expression des gènes responsables de la production de bactériocine (Leroy et De Vuyst, 2001).

Il semble que la dégradation enzymatique de la bactériocine est le facteur majeur de la diminution de son activité dans les produits alimentaires, et donc de la reprise de croissance de la flore mésophile aérobie totale.

L'activité enzymatique est due aux protéases qui se trouvent naturellement dans le produit alimentaire. Ce cas se présente surtout pour les produits alimentaires non cuits (ex. viande non cuite, saumon, viande du poulet frais,...). Selon Ghalfi (2008), l'introduction de protéines solubles qui seraient des substrats pour les protéases (ex. lactosérum,...) pourrait être une solution. Ces protéines peuvent être ajoutées dans le produit alimentaire et contribuer à la réduction de l'intensité de l'action des enzymes sur la bactériocine. Cependant, cette approche peut être difficilement applicable dans certains produits étant donné qu'elle nécessite l'utilisation de protéines solubles qui peuvent avoir des conséquences négatives sur les propriétés organoleptiques et le coût de revient du produit alimentaire.

Dans les cultures en fioles, la production de bactériocine par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 est fortement améliorée dans le MRS contenant 15 g de glucose par litre et 40 g de matière azotée par litre, comparé au milieu MRS standard comportant 20 g de glucose par litre et 20 g de matière azotée par litre. Il est bien connu que le milieu MRS a été développé pour favoriser une bonne croissance des bactéries lactiques (De Man et *al.*, 1960). Cependant, étant donné que les bactéries lactiques sont des microorganismes exigeants, la croissance de certaines souches est souvent inhibée par manque d'éléments nutritionnels (Leroy et De Vuyst, 2001).

Dans la présente étude, la diminution de la concentration initiale de glucose (15 g/l) et l'augmentation de la matière azotée (40 g/l) par rapport au milieu MRS standard (20 g/l glucose/20 g/l matière azotée) occasionne une augmentation de la biomasse qui se traduit par une augmentation de la production de bactériocine.

En outre, il semble que la source de la matière azotée stimule la production de la bactériocine probablement par l'activation des enzymes de synthèse de la bactériocine (Cheigh et *al.*, 2002; Todorov et Dicks, 2005). Cependant, l'augmentation de la concentration en matière azotée à 80 g par litre limite la production de la bactériocine. Cet effet peut être attribué soit à la formation de substances toxiques pour la cellule, lors de la stérilisation du milieu (Verluyten et *al.*, 2004) soit à une régulation de l'expression des gènes responsables de la production de bactériocine (Leroy et De Vuyst, 2001).

Cependant, des études de Ghalfi et *al.* (2008) montrent que la production bactériocine ne dépend pas uniquement de la composition du milieu de culture mais aussi de la technique d'alimentation des substrats et semble être significativement améliorée en culture fed-batch à débit variable. Toutefois, les résultats obtenus dans cette étude, doivent être d'une part confirmés et améliorés avec la technique de fermentation continue qui assure non seulement une alimentation continue des nutriments mais également une élimination continue des composés inhibiteurs. L'amélioration qualitative de la production de bactériocine doit intégrer également les conditions environnementales. Ainsi, en plus de son activité antimicrobienne, l'amélioration de la production de bactériocine pourrait avoir d'autres rôles tels que le développement de l'arôme, de la texture et des effets probiotiques. Egalement, la bactériocine produite *in situ* pourrait avoir un effet inhibiteur additionnel ou de synergie contre les bactéries pathogènes et d'altération, présentes dans le produit alimentaire (Todorov et Dicks, 2005).

Toutefois, les résultats obtenus dans cette étude, doivent être d'une part confirmés et améliorés avec la technique de fermentation continue qui assure non seulement une alimentation continue des nutriments mais également une élimination continue des composés inhibiteurs. L'amélioration qualitative de la production de bactériocine doit intégrer également les conditions environnementales. Ainsi, en plus de son activité antimicrobienne, l'amélioration de la production de bactériocine pourrait avoir d'autres rôles tels que le développement de l'arôme, de la texture et des effets probiotiques. Egalement, la bactériocine produite *in situ* pourrait avoir un effet inhibiteur additionnel ou de synergie contre les bactéries pathogènes et d'altération, présentes dans le produit alimentaire (Todorov et Dicks, 2005).

L'addition de concentrations élevées en matière azotée dans le milieu MRS augmente le coût de la production. A ce propos, il semble être plus judicieux d'utiliser des matières moins coûteuses, telles que certains déchets de l'industrie alimentaire, comme constituants du milieu de culture MRS pour la formulation d'un milieu économique pour la production des bactériocines (Cladera-Olivera et al., 2004; Guerra et al., 2005).

Au Sénégal, la fermentation naturelle des produits halieutiques est une méthode de conservation des aliments très utilisée. La souche bactérienne (*Lactococcus lactis* CWBI-B1410) utilisée dans ce travail a été isolée par Diop (2008) à partir de produits céréaliers fermentés traditionnellement. De même, d'autres bactéries productrices de bactériocines largement répandues dans la nature ont été découvertes. Elles ont été isolées de nombreuses sources telles que les produits laitiers (Ayad et al., 2004; Aslim et al., 2005), les saucissons fermentés (Herranz et al., 2001; Noonpakdee et al., 2003), les produits halieutiques (Østergaard et al., 1998; Duffes et al., 1999), les produits végétaux (Uhlman et al., 1992) et même le tractus gastro-intestinal des mammifères (Pattnaik et al., 2005).

L'étude de l'activité antagoniste entre *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 et la flore mésophile a montré que *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 a une activité inhibitrice très importante à l'égard de la flore mésophile. Au 4^{ème} jour de traitement, le nombre de microorganismes mésophiles est largement supérieur dans l'échantillon témoin que dans les échantillons traités avec les surnageants de MRS standard et de MRS modifié.

Par ailleurs, les courbes de la figure 11 montrent que l'inhibition n'est pas totale dans les trois essais. Il a été constaté une évolution de la croissance de la flore mésophile aérobie totale dans l'échantillon témoin et dans les 2 échantillons traités avec les surnageants de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 cultivé dans du MRS simple et du MRS modifié. Ces résultats montrent que malgré l'utilisation des surnageants de culture, on constate toujours la présence de germes vivants à des taux différents dans les essais. Ces résultats sont conformes à ceux décrits sur la reprise de croissance de *Listeria monocytogenes* dans un surnageant de culture de *Lactobacillus curvatis* par Dicks et al., (2004) et Martinez et De Martinis, (2005). Elle a été expliquée par la présence d'une faible concentration de bactériocine dans le milieu, l'influence de la composition du produit alimentaire sur l'activité de la bactériocine (Bhatti et al., 2004; Ananou et al., 2005), la dégradation enzymatique (Murray et Richard, 1997); une faible diffusion et une distribution irrégulière des molécules de la bactériocine dans la matrice alimentaire ou par l'émergence de cellules résistantes à la bactériocine (Song et Richard, 1997).

La reprise de croissance de *Listeria monocytogenes* dans un surnageant de culture de *Lactobacillus curvatis* a été décrite à plusieurs reprises (Motlagh et al., 1992; Benkerroum et al., 2000; Davidson et Harrison, 2002; Dicks et al., 2004; Martinez et De Martinis, 2005) et elle a été expliquée par la présence d'une faible concentration de bactériocine dans le milieu, l'influence de la composition du produit alimentaire sur l'activité de la bactériocine (Bhatti et al., 2004; Ananou et al., 2005), la dégradation enzymatique (Murray et Richard, 1997; Wan et al., 1997), une faible diffusion et une distribution irrégulière des molécules de la bactériocine dans la matrice alimentaire ou par l'émergence de cellules résistantes à la bactériocine (Song et Richard, 1997).

Il semble que la dégradation enzymatique de la bactériocine est le facteur majeur de la diminution de son activité dans les produits alimentaires, et donc de la reprise de croissance de la flore mésophile aérobie totale. L'activité enzymatique est due aux protéases qui se trouvent naturellement dans le produit alimentaire. Ce cas se présente surtout pour les produits alimentaires non cuits (exemple : viande non cuite, saumon, viande du poulet frais,...).

Selon Rodriguez *et al.*, (2000), la flore lactique naturellement présente dans les denrées crues joue le rôle de starters. Les bactéries lactiques transforment les hydrates de carbone en acide lactique ou en acides lactique et acétique. Cette acidification des denrées alimentaires correspondant à une baisse de pH empêchent les bactéries à Gram négatif et certaines bactéries à Gram positif (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*). La majorité de ces souches indésirables est très sensible à des pH inférieurs à 4,5 (Bourgeois et Larpent, 1996). Certaines souches de bactéries lactiques produisent des bactériocines qui ne sont pas toxiques aux cellules eucaryotes. Ces bactériocines sont dégradées par les enzymes digestives et ont un effet faible sur la flore intestinale. Par contre, beaucoup de bactériocines de bactéries lactiques exercent un effet inhibiteur contre plusieurs bactéries impliquées dans les maladies d'origines alimentaires.

Des études réalisées par Thomas (2000) sur l'application de ces composés comme conservateurs dans les aliments ont montré plusieurs avantages notamment l'extension de la durée de conservation des aliments, la réduction de la transmission de maladies via la chaîne alimentaire, et la réduction des pertes économiques et marchandes liées à la dégradation bactérienne.

Le potentiel bioprotecteur des bactéries lactiques vis à vis de germes pathogènes et des microorganismes d'altération a souvent été mis en évidence. Le présent travail avait pour objectif d'optimiser la production de bactériocine par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 en faisant varier les composants du milieu MRS. Il en ressort que le milieu MRS modifié dont la composition comporte 20 g/L de glucose et 40 g/L de composants azotés est plus favorable au développement de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410. Le surnageant de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 obtenu à partir du milieu MRS modifié qui a été appliqué au filet a entraîné un net ralentissement de la croissance bactérienne par rapport au milieu MRS standard. L'étude du milieu MRS modifié pourrait donc être approfondie pour l'amélioration de la culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 et vulgariser son utilisation comme agent naturel pour une meilleure conservation des produits de la pêche. Cependant des recherches additionnelles mériteraient d'être entreprises pour évaluer le rendement et le coût de production des surnageants de culture.

3. CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATIONS

3.1. CONCLUSION GENERALE

Ce présent travail est une contribution à l'évaluation de la qualité générale du poisson en amont de sa transformation et à l'amélioration des méthodes de bioconservation des filets de poisson par l'utilisation d'une bactérie lactique, *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 isolée à partir de produits céréaliers au Sénégal.

La première partie de cette étude a été menée à trois étapes différentes : à la capture, au débarquement et à l'entrée en usine, sur trois espèces de poissons les plus souvent transformés en filet, la sole limande (*Syacium guineensis*), le mérrou à points bleus (*Cephalopholis taeniops*) et le rouget (*Pseudupeneus prayensis*).

A chaque niveau d'étude, des analyses sensorielles, chimiques et microbiologiques ont été effectuées. Ces analyses nous ont permis d'identifier les points critiques liés aux conditions de manipulation et de conservation du produit.

A la capture comme au débarquement et à l'entrée en usine, les tests organoleptiques ont donné des résultats satisfaisants pour les trois espèces. Les analyses chimiques, par la détermination de l'ABVT, ont donné des résultats permettant de classer les poissons qualitativement dans la catégorie A ou E. Les courbes d'évolution de la flore mésophile tracées à la suite des analyses microbiologiques, montrent une croissance. La présence de coliformes fécaux et de streptocoques D dans le poisson après capture confirme sa contamination directe par le manipulateur.

La faible contamination de la peau à la capture est en relation directe avec la qualité microbiologique de l'eau qui héberge le poisson à l'état vivant.

Les branchies dont le rôle est de filtrer l'eau et de capter l'oxygène destiné à la respiration du poisson, sont relativement contaminées. Elles sont chargées de retenir toutes les particules que contient l'eau dont les bactéries. Une eau de mer fortement contaminée entraîne une présence importante de germes dans les branchies

La contamination des viscères est liée à l'alimentation du poisson. Les poissons qui se nourrissent de débris de végétaux ou de crustacés contenant des germes peuvent avoir dans leurs voies digestives des bactéries (Dieng, 2004). Lors d'une manipulation brutale du poisson, les bactéries disséminent et contaminent les autres organes internes : les viscères.

A l'état vivant, le poisson qui est doté d'une capacité d'autodéfense immunitaire s'oppose à l'action bactérienne. Cela constitue un facteur essentiel qui s'oppose à l'évolution bactérienne.

Après la mort du poisson, on constate une évolution de la flore microbienne dans les heures qui suivent la capture; c'est-à-dire au débarquement.

A partir des résultats des analyses de la capture au débarquement, le poisson a été fortement contaminé soit par le piroguier lors des nombreuses manipulations soit il a été mal conservé durant toute la période de pêche.

Les analyses microbiologiques réalisées sur l'eau de mer, milieu naturel du poisson non pollué, ont donné des valeurs de flore mésophile relativement faibles au niveau de la peau et des branchies. Les quelques germes rencontrés dans les viscères sont apportés par l'alimentation.

Le débarquement constitue une étape de manutention pendant laquelle les produits peuvent faire l'objet d'une contamination microbienne. A ce stade, une rupture de la chaîne de froid conduit à une croissance microbienne qui entraîne très souvent un début d'altération des produits. Le débarquement doit donc se faire rapidement pour empêcher le réchauffement des produits.

En définitive, il convient de constater que le dénombrement de la flore bactérienne dans le poisson entier ne constitue pas à lui seul un moyen de détermination de la qualité. Cependant, il permet d'identifier les points critiques qui peuvent constituer les sources d'altération du poisson.

La forte présence de la flore microbienne est généralement due à un manque d'hygiène et à une rupture de la chaîne de froid.

La constance des résultats sensoriels s'explique par le fait que les bactéries n'ont pas le temps de pénétrer dans la chair du poisson pour la décomposer.

La gestion de la qualité des produits halieutiques ne peut être efficace que si elle est accompagnée de l'éducation des différents acteurs de la pêche. Les autorités publiques ont un rôle important à jouer en répondant aux interrogations et inquiétudes des pêcheurs. Les résultats obtenus pourraient être complétés par des dosages spécifiques de la TMA, de l'indole et par un contrôle régulier de la qualité chimique et microbiologique des eaux

côtières. De même, la mesure du pH pourrait mettre en évidence une certaine lipolyse qui libère des acides gras. Aussi, du fait de l'absence des règles élémentaires d'hygiène et d'une mauvaise conservation du poisson, les industriels reçoivent très souvent de la matière première fortement contaminée; d'où la nécessité d'améliorer les conditions de conservation. C'est ainsi que la deuxième partie de l'étude s'est intéressée à l'amélioration des conditions de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 et son utilisation pour la bioconservation de filets de sole.

Les différents procédés de conservation des aliments ont pendant longtemps été étudiés et n'ont pas toujours révélé la même efficacité. Certains dénaturent fortement le produit (valeur nutritionnelle, etc.), d'autres ne permettent qu'une très courte conservation. Toutefois, il convient de préciser qu'il n'est pas possible de conserver les aliments en maintenant le maximum de valeurs nutritionnelles et en apportant le moins possible de nuisances aux produits. Depuis une dizaine d'années, des recherches soulignent l'intérêt potentiel des bactériocines pour la conservation des aliments (Dortu, 2009). L'application des bactériocines dans les aliments, pour y éviter le développement de bactéries dangereuses ou altérantes, représente une technologie douce de conservation des produits alimentaires.

L'utilisation du surnageant de culture neutralisé (SCN) de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 dirigé contre la flore indésirable et particulièrement contre la flore mésophile aérobie totale pourrait aboutir à son utilisation comme agent naturel pour une meilleure conservation des produits de la pêche.

L'amélioration du milieu de culture facilite la réussite de la bioconservation des filets de poisson par les bactéries lactiques. Cette étude a montré que la production de la biomasse et donc de la bactériocine par la souche de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410 est influencée par la composition du milieu MRS en matière azotée (40 g/l) et que la quantité de glucose proposée dans le milieu standard peut être revue à la baisse jusqu'à 15 g/l pouvant entraîner ainsi des économies. Les concentrations très élevées de glucose et de matière azotée n'entraînent nécessairement pas une augmentation de la biomasse.

L'analyse statistique du nombre de bactéries en fonction du type de milieu MRS utilisé (MRS standard et MRS modifié), du premier jour au sixième jour des tests montre que le nombre moyen de bactérie varie considérablement d'un milieu à l'autre. L'application de la régression

binomiale négative montre que le modèle est globalement significatif. Le modèle indique une différence statistique significative entre le milieu MRS standard et le milieu MRS modifié.

Pour des raisons économiques et dans le souci d'éviter le coût élevé de la matière azotée utilisée dans la préparation du milieu MRS, Guerra et *al.*, (2001) ont proposé l'utilisation de certains déchets de l'industrie alimentaire comme constituants de milieux de culture, pour la reformulation du milieu MRS dans la production des bactériocines. Cette approche a d'ailleurs suscité l'intérêt d'étudier un modèle mathématique pour la modélisation de la dynamique de croissance *Lactococcus Lactis* CWBI-B1410. Cette étude a fait l'objet d'un article en cours de préparation.

Beaucoup de modèles mathématiques sont développés pour décrire tous les phénomènes engendrés lors de la croissance de bactéries sur un aliment. Dans cette étude la variation de glucose et de matière azotée dans le milieu MRS a montré des résultats prometteurs. Ces résultats pourraient être améliorés dans le cas de culture continue. Un suivi du pH et de la taille de l'inoculum au démarrage de la culture ouvrirait d'importantes perspectives pour la modélisation de la dynamique de croissance de la souche de *Lactococcus Lactis* CWBI-B1410.

L'utilisation des bactériocines est cependant soumise à de nombreuses contraintes.

3.2. RECOMMANDATIONS

Le développement harmonieux de la pêche artisanale a toujours été une préoccupation de l'Etat du Sénégal. La conservation des produits halieutiques est un réel problème chez les pêcheurs artisans. Ainsi, il s'avère nécessaire de poser un réel diagnostic pour une meilleure compréhension des problèmes rencontrés par les pêcheurs sénégalais dans son ensemble.

Les pratiques et méthodes favorables à la préservation de la ressource et à son exploitation rationnelle doivent être améliorées. Pour atteindre cet objectif, les principaux acteurs de la pêche artisanale doivent être mis dans de meilleures conditions. Pour cela nous recommandons :

- . La mise en place d'organismes de formation pour l'amélioration du niveau de connaissance des pêcheurs.
- . Mettre en place des systèmes de crédit véritables et durables pour un développement optimal de la pêche artisanale dans chaque région maritime.
- . Interdire la pollution et en même temps surveiller à la destruction de l'environnement par les déchets industriels.
- . Faire bénéficier les pêcheurs artisans d'une protection sociale adéquate en soutenant les efforts d'organisation sociale et professionnelle entrepris et gérés par la FENAGIE et les aider à accéder à des services d'appui technique ;
- . L'équipement des pirogues en matériels de conservation et une mise à niveau des connaissances des pêcheurs sur les risques de contaminations s'avèrent une nécessité absolue pour protéger convenablement les produits de pêche lors de leur capture.
- . Les produits halieutiques étant des denrées très périssables dont la manipulation exige une attention particulière, ils doivent être traités dans de bonnes conditions d'hygiène et de propreté avec une chaîne de froid continue. C'est pourquoi il est recommandé de les réfrigérer ou de les congeler afin qu'ils puissent garder leur fraîcheur.
- . La conservation à bord doit se faire dans des installations adéquates qui permettent de maintenir la fraîcheur à cœur. Aussi l'eau utilisée pour la préparation de la glace doit-elle être salubre.

Au plan de la conservation, en plus des techniques traditionnelles utilisées, le développement de la bioconservation doit être encouragé par nos industriels.

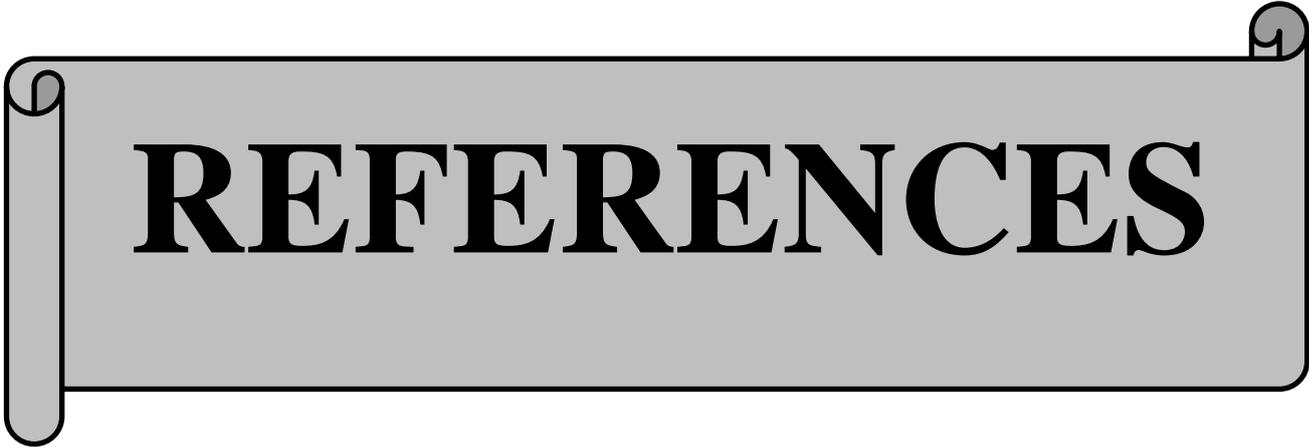
Au terme de cette recherche, nous disposons d'un ensemble de connaissances sur la diversité et les propriétés des bactéries lactiques productrices de bactériocines. Nous disposons également d'une stratégie d'isolement et de sélection de ces bactéries de l'environnement.

Les différents résultats et les conclusions qui ont été dégagés tout au long de cette étude ouvrent la voie à une série de recommandations et de recherches additionnelles.

Ainsi, les professionnels des entreprises de pêche pourront évaluer le potentiel de cette souche afin d'améliorer la qualité sanitaire des produits alimentaires. Il est recommandé pour la production de la bactériocine par *Lactococcus lactis* CWBI-B1410, d'étudier l'influence de tous les composants du milieu de culture et de tous les paramètres physico-chimiques afin de définir de façon précise un milieu optimal complet de production de cette bactériocine, de stabiliser et de modéliser cette production en utilisant d'autres techniques de culture telle que la culture continue. Cette disposition apporterait sans aucun doute plus de clarté à la problématique de la contribution de certains composés dans la stimulation de la production des bactériocines. Elle pourrait également aboutir à la mise au point d'un milieu de culture, non seulement optimal pour la production mais également économique.

L'étude du rôle des enzymes produites par la souche ou celles qui existent naturellement dans le produit alimentaire, impliquées dans la dégradation de la bactériocine, pourrait contribuer à la compréhension du phénomène de rebond et à proposer des remèdes pouvant diminuer l'intensité de ce phénomène dans les produits alimentaires.

Ce travail ne prétend pas apporter tous les éléments de réponse aux questions relatives aux difficultés de la pêche artisanale et à la bioconservation des filets de poisson par l'utilisation de bactéries lactiques comme *Lactococcus lactis* CWBI-B1410. Dans un contexte aussi large, les objectifs d'une thèse ne peuvent qu'être modestes. Par ailleurs, un grand nombre de sujets directement liés à la pêche n'ont pas largement été traités, ni même mentionnés dans le manuscrit (pollution, accords de pêche, etc.). Néanmoins, il est à espérer que cette étude contribuera à faire avancer la gestion de la qualité dans le secteur de la pêche artisanale au Sénégal.



REFERENCES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Aasen I.: **Influence of complex nutrients, temperature and pH on bacteriocin production by *L. sakei* CCUG 42687.** *Appl. Microbiol Biotechnol* 2000, 53: 159-166.
2. Ababouch L. H. : **Assurance de la qualité en industrie halieutique. Manuel Scientifique et technique.** Actes Edition, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc 1995.
3. Abee T., Krockel L. and Hill C.: **Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning.** *Int JFood Microbiol* 1995, 28: 169-185.
4. Abgrall B. : **Poissons et autres produits de la mer. In : Microbiologie alimentaire, aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire.** Vol 1, *Tec et Doc (Ed), Lavoisier, Paris* 1988, p 251-264.
5. Agence française de Développement : **Évaluation des impacts des projets menés dans le secteur de la pêche artisanale** (quais de pêche) au Sénégal 2010.
6. Aksnes, A. and Brekken B.: **Tissue degradation, amino acid liberation and bacterial decomposition of bulk stored capelin.** John Wiley & Sons, Ltd. 1988, 45: 53-60.
7. Altena K., Guder A., Gramer C. and Bierbaum G.: **Biosynthesis of lantibiotic mersacidin: organization of the type B lantibiotic gene cluster.** *Appl Environ Microbiol* 2002, **66**: 2565-2571.
8. Amir R. S., Gudjon T. and Sigurjon A.: **Quality Changes of Fresh and Frozen Protein Solutions Extracted from Atlantic Cod (*Gadus morhua*) Trim as Affected by Salt, Cryoprotectants and Storage Time.** *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2012, 12: 41-51.
9. Ananou S., Garriga M., Hugas M., Maqueda M., Martinez-Bueno M., Galvez A. & Valdivia, E.: **Control of *Listeria monocytogenes* in model sausages by enterocin AS-48.** *Int JFood Microbiol* 2005, 103, 179-190.
10. Baixas-Nogueras S., Bover-Cid S., Vidal-Carou M.C. and Veciana-Nogues M.T.: **Volatile and Nonvolatile Amines in Mediterranean Hake as a Function of their Storage Temperature.** *J Agric Food Chem* 2002, 50(22): 6504–6510.
11. Baker R.C., Winkowski K., Montville T.J.: **pH-controlled fermentors to increase production of leuconocin S by *Leuconostoc paramesenteroides*.** *Process Biochemistry* 1996, 31: 225-228.
12. Banani R., Runu C. and Utpal C.: **Modelling and stimulation of diffusional mass transfer of glucose during fermentative production of pediocin ach from *pediococcus acidilactici* H.** *J Bioch Eng* 2003, 16: 237-243.
13. Barakat R., Harris L.: **Growth of *Listeria monocytogenes* and *yersinia enterocolitica* on cooked modified-atmosphere-packaged poultry in the presence and absence of a naturally occurring microbial.** *Appl Environ Microbiol* 1999, 65: 342-345.
14. Bavoux J-J. et Bavoux D. : **Géographie humaine des littoraux maritimes**, Paris, Armand Colin 1998 : 95p.
15. Bellemans M.S., Sagna, A., Fischer W. et Scialabba N.: **Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Guide des ressources halieutiques du Sénégal et de la Gambie (espèces marines et d'eaux saumâtres).** Rome, FAO, 1988, 227 p.

16. Bene A., Fornage A., Luisier J., Pichler P., Villettaz J.: **A New Method for the Rapid Determination of Volatile Substances: the SPME-direct Method part I: Apparatus and Working Conditions.** *Sensors and actuators b: chemical* 2001, 72: 184-187.
17. Benkerroum N., Oubel H., Zahar M., Dlia S., Filali-Maltouf A.: **Isolation of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and application to control *Listeria monocytogenes* in Moroccan *jben*.** *Journal of Applied Microbiology* 2000, 89: 960-968.
18. Benz, R., Jung, G. and Sahl, H.-G.: **Nisin and Novel Lantibiotics.** *ESCOM Science Publishers, Leiden* 1991: 359-372.
19. Bhatti M., Veeramachaneni A., Shelef L.A.: **Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk.** *Int J Food Microbiol* 2004, 97: 215-219.
20. Bhatti M., Veeramachaneni A., Shelef L.A.: **Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk.** *Int J Food Microbiol* 2004, 97: 215-219.
21. Bombe D., Delebecque O. et LEBA D. : **Méthode rapide de contrôle de la stabilité des produits appertisés par impédancemétrie.** *Viandes Prod Carnés*, 1997, 18 : 227- 233.
22. Bornert G.: **Intérêt pratique des indicateurs de contamination fécale de l'eau et des aliments.** *Bull Soc Vét Prat de France*, 1998.
23. Botta J.R., Kennedy K.M., Kiceniuk W. and Legrow J.: **Importance of redfeed level, fish size and roe content to the quality of roe capelin.** *Int J Food Sc & Technol* 1992, 27 (1): 93-98.
24. Bourgeois C.M., Leveau J.Y. : **Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries Agroalimentaires** 1980.
25. Brasseur, L.R.: **Differentiation of lipid-associating helices by use of three-dimensional molecular hydrophobicity potential calculations.** *Journal of Biological Chemistry* 1991, 266: 16120-16127.
26. Breukink, E., van Kraaij, C., Demel, R.A., Siezen, R.J., Kuipers, O.P. and de Kruijff, B.: **The C-terminal region of nisin is responsible for the initial interaction of nisin with the target membrane.** *Biochemistry* 1997, 36: 6968-6976.
27. Cabo M.L., Murado M.A., Gonzalez M.P., Pastoriza L.: **Effects on aeration and pH gradient on nisin production. A mathematical model.** *Enzyme Microb Technol*, 2001, 29:264-273.
28. Caplice E., Gelald F.: **Food fermentation: role of microorganisms in food and preservation.** *Int. J. food Microbiol.* 1999, 50: 131-149.
29. Carine Dortu, Philippe Thonart. : **Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires.** *Biotechnol Agron Soc Environ* 2009, 13(1) : 143-154.
30. CEE: **Règlement N° 103 Normes communes de commercialisation pour certains produits frais ou réfrigérés** 1976.
31. Chaboud Christian et Emmanuei Charles-dominique. : **Les pêches artisanales en Afrique de l'ouest : état des connaissances et évolution de la recherche**1991 : In J.R Durand., L. Lemoalle J. and J. Weber, eds. *La recherche face à la pêche artisanale*, P 99-143. Symposium international ORSTOM-IFREMER, France, 3-7 july 1989, Montpellier, Paris, ORSTOM ;

32. Chaussade J et Guillaume J., **Pêche et aquaculture : Pour une exploitation durable des ressources vivantes de la mer et du littoral**, Rennes. PUR coll Espace et territoires 2006, 562 p.
33. Chaussade J.: **Les ressources de la mer**, Paris, FLAMMARION, coll. Domino 1997 : 128 p.
34. Cheigh C. I., Choi H. J., Park H., Kim S.B., Kook M.C., Kim T.S., Hwang J.K.& Pyun, Y.R.: **Influence of growth conditions on the production of a nisin-like bacteriocin by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 isolated from kimchi**. *Journal of Biotechnology* 2002, 95: 225-235.
35. Chen Y.S., Srionnual S., Onda T. & Yanagida F.: **Effects of prebiotic oligosaccharides and trehalose on growth and production of bacteriocins by lactic acid bacteria**. *Lett Appl Microbiol* 2007, 45: 190-193.
36. Chiba A., Hamaguchi M., Kosaka T., Tokuno T.& Asai S.: **Quality Evaluation of Fish Meat by 31 Phosphorus-Nuclear Magnetic Resonance**, Blackwell., *Publishing Ltd* 1991, 56: 660-664.
37. Cintas L., Casaus, P., Håvarstein, L.S., Hernández, P.E. and Nes, I.F.: **Biochemical and genetic characterization of enterocin P, a novel sec-dependent bacteriocin from *Enterococcus faecium* P13 with a broad antimicrobial spectrum**. *Appl and Environ Microbiology* 1997, 63: 4321-4330.
38. Cintas, L.M., Casaus P., Herranz C., Havarstein L.S., Holo H. Hernandez P.E., and NES I.F.: **Biochemical and genetic evidence that *Enterococcus faecium* L50 produces enterocins L50A and L50B, the sec-dependent enterocin P, and a novel bacteriocin secreted without an N-terminal extension termed enterocin**. *Q. Journal of Bacteriology* 2000, 182: 6806-6814.
39. Cleveland J, Montville TJ, Nes IF & Chikindas ML.: **Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation**. *Int J Food Microbiol* 2001, 71: 1–20.
40. Cogan, T.M. and. Accolas J.P.: **History and taxonomy of starter culture**. In: Dairy Starter Culture. (Eds), *VCH Publishers, Inc* 1996, pp. 1-25.
41. Corraze G. et Kaushik S.J. : **Les lipides des poissons marins et d'eau douce**. OCL 1999, 6: 111-5.
42. Corsetti A., Gobetti M., Rossi J.& Damiani P.: **Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: Identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus Sanfrancisco* CB1**. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1998, 50: 253-256.
43. Corsetti, L.; Settani L. et Van Sinderen D.: **Characterization of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) from sourdough lactic acid bacteria and evaluation of their in vitro and in situ activity**. *J Appl Microbiol* 2004, 96: 521-534.
44. Cotter P.D., Hill C.; Ross R.P.: **Bacteriocins: Developing innate immunity for food**. *Food Microbiology* 2005, 3: 777-788.
45. Davidson P.M. and Harrison M.A.: **Resistance and adaptation to food antimicrobials, sanitizers, and other process controls**. *Food Technology* 2002, 56: 60-78.
46. De Man J.C., Rogosa M. and Sharpe M.E.: **A medium for the cultivation of lactobacilli**. *Journal of Applied Bacteriology* 1960, 22: 130-135.

47. De Vuyst L., Callewaert R. & Crabbé K.: **Primary metabolite kinetics of bacteriocin biosynthesis by *L. amylovorus* and evidence for stimulation of bacteriocin production under unfavourable growth conditions.** *Microbiology* 1996, 142: 817-827.
48. De Vuyst, L. and Vandamme E.J. in De Vuyst L. and Vandamme E. J. (Eds.) 1994: **Bacteriocins of lactic acid bacteria: Microbiology, genetics and applications;** Antimicrobial potential of Lactic acid bacteria. London Blackie: Academic and Professional, 1994, pp. 91-142.
49. Deegan L.H., Cotter P.D., Hill C. & Ross P.: **Bacteriocins: biological tools for bio-preservation and shelf-life extension.** *Int Dairy J* 2006, 16:1058-1071.
50. Degnan A., Kaspar C., Otwell S., Tamplin M. & Luchansky J.: **Evaluation of lactic acid bacterium fermentation products and food grade chemicals to control *Listeria monocytogenes* in blue crab (*Callinectes sapidus*) meat.** *Appl Environ Microbiol* 1994, 60: 3198-203.
51. Dellaglio F., De Roissart S., Torriani M., Curk., Jaussens D.: **Bactérie lactique, Aspects fondamentaux et technologie**, volume 1, Edition Iorica 1994 : 25-70.
52. Delves-Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R.J. and Hugenholtz, J.: **Applications of the bacteriocin nisin.** *Applied Microbiology Inc., Dorset, UK* 1996, 69: 193-202.
53. Dicks L. M. T., Mellett F. D. & Hoffman L.C.: **Use of bacteriocin-producing starter cultures of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus curvatus* in production of ostrich meat salami.** *Meat Science* 2004, 66: 703-708.
54. Diop, M.B.; Tine, E., NGom, E.H.A., Duboisdauphin, R., Destain, J. et Thonart, P.: **Selection of bacteriocin-producing LAB from traditional fermented food from Senegal.** *Biotechnol Agr Soc Environ* 2007, 11 (4): 275-281.
55. DOPM (Direction des pêches maritimes), Ministère de l'économie maritime et des transports maritimes internationaux, république du Sénégal : **Résultats Généraux des pêches maritimes**, Rapport 2004.
56. DPM /Sénégal.: **Direction des pêches maritimes Dakar/Sénégal**, Rapport 2004.
57. DPM / Sénégal.: **Direction des pêches maritimes Dakar/Sénégal**, Rapport 2009.
58. DPM, Rapport Ministère de la Pêche et des Affaires maritimes. **Conseil Interministériel sur la Pêche, document Introductif.** Juin 2013.
59. Driessen A., Van den Hooven H., Kuiper W., Van der Kemp M., Sahl H., Koning R., Koning W.: **Mechanistic studies of lantibiotic-induced permeabilisation of phospholipid vesicles.** *Biochem.* 1995, 34: 1606-1614.
60. Diep, D. B., and Nes I. F.: **Ribosomally synthesized antibacterial peptides in Gram positive bacteria.** *Current Drug Targets* 2002, 3:107-122.
61. Eijsink V., Skeie M., Middelhoven P., Brurberg M., Nes I.: **Comparative Studies of class IIa bacteriocin of lactic acid bacteria.** *Appl Environ Microbiol* 1998, 64: 3275-3281.
62. Einarsson H. and Lauzon H.L.: **Biopreservation of brined shrimp (*pandalus-borealis*) by bacteriocins from lactic-acid bacteria.** *Appl Environ Microbiol* 1995, 61: 669-676.
63. El-ziney M.: **Antimicrobial activity of lactic acid bacteria metabolites: the role of lactic acid enterocin 5701 and reuterin.** Thèse de Doctorat (PhD). Université de Gent. 1998: pp 3-23.

64. Enan G., El Essay A., Uyttendaele M., Debevere J.: **Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* UGI isolated from dry sausage. Characterization, production and bactericidal action of planticin UGI.** *Int J Food Microbiol* 1996, 30: 189-215.
65. Ennahar S., Sonomoto K., Ishizaki A.: **Class IIa Bacteriocins from Lactic acid bacteria: Antibacterial activity and food preservation.** *Journal of Bioscience and Bioengineering* 1999, 87: 705-716.
66. Ennahar, S., Sashihara, T., Sonomoto, K. and Ishizaki, A.: **Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity.** *FEMS Microbiology Reviews* 2000, 24: 85-106.
67. FAO : **La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture, département des pêches et de l'aquaculture**, Rome 2010 : 244p.
68. FAO. **Développement des pêches. Topics Fact Sheets.** Dans: Département des pêches et de l'aquaculture 2001[en ligne]. [Cité le 26 August 2013]. <http://www.fao.org/fishery/topic/2013/fr>.
69. FAO. **Les pêches artisanales - Site Web. Directives internationales pour garantir des pêches artisanales durables [Directives PAD].** FI Institutional Websites. Dans: Département des pêches et de l'aquaculture de la FA 2011-2013.
70. Farge P. : **Données récentes sur l'étiopathogénie de la carie.** *Archives de Pédiatrie* 1998, 5:1140-1144.
71. Favrin J., Sabah A., Mansel W.: **Development and optimization of novel immunomagnetic separation bacteriophage assay for detection of salmonella enterica serovar Enteritidis in broth.** *Appl Environ Microbiol* 2001, 67: 217-224.
72. Ferreira, M.A.S.S. and Lund, B.M.: **The effect of nisin on *Listeria monocytogenes* in culture medium and long-life cottage cheese.** *Letters of Applied Microbiology* 1996, 22: 433-438.
73. Firth R.: **Malay fishermen, their peasant economy** M. egan Paul, Trench. Trubner. Ltd, London: 1946, 354 p.
74. Galvez A., Abriouel H., Lopez R.L., Ben Omar N.: **Bacteriocin-based strategies for food biopreservation.** *Int J Food Microbiol* 2007, 120: 1-2, 51-70.
75. Garcera, M.J., Elferink, M.G., Driessen, A.J. and Konings, W.N.: **In vitro pore-forming activity of the lantibiotic nisin. Role of proton motive force and lipid composition.** *European Journal of Biochemistry* 1993, 212: 417-422.
76. Garneau M., Martin N. and Vederas J.: **Two peptide bacteriocins produced by lactic bacteria.** *Bioch.* 2002, 84: 577-592.
77. Ghalfi H. : **Sélection et utilisation des bactéries lactiques productrices de bactériocines antilisteria comme bio-conservateur et caractérisation de trois bactériocines produites par *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28.** - Gembloux : Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux. - 330 p. : ill. ; 30 cm. Thèse de Doctorat en sciences agronomiques et ingénierie biologique: Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux, 2006 BB B 2006.
78. Giffard C.J., Dodd H.M., Horn N., Ladha S., Mackie A.R., Parr A., Gasson M.J., Sanders D.: **Structure-function relations of variant and fragment nisins studied with model membrane systems.** *Biochemistry* 1997, 36: 3802-3810.

79. Gram L., Huss H.: **Microbiological spoilage of fish and fish products.** *Int J Food Microbiol* 1996, 33: 121-131.
80. Gratia A. et Fredericq P. : **Pluralité et complexité des colicines.** 7. Congrès internat. chim. biol. Liège 1948.
81. Gratia, A. : **Antagonisme entre deux souches de colibacille.** Conférence à la Société de Biologie (Paris) 1925, 93 : 1040-1041.
82. Graziella B. : **La contamination microbienne des produits de la pêche et plus spécifiquement celle par *listeria monocytogenes*.** Académie d'Agriculture de France – Communication. Séance du 7 avril 2010.
83. Graziella B.: **La contamination microbienne des produits de la pêche et plus spécifiquement celle par *listeria monocytogenes*.** Académie d'Agriculture de France – Communication. Séance du 7 avril 2010.
84. Guerra N.P., Agrasar A.T., Macias C.L. and Pastrana L.: **Modelling the fed-batch production of pediocin using mussel processing wastes.** *Process Biochemistry* 2005, 40: 1071-1083.
85. Guerra N.P., Rua M.L., Pastrana, L.: **Nutritional factors affecting the production of two bacteriocins from lactic acid bacteria on whey.** *International Journal of Food Microbiology* 2001:70: 267-281.
86. Guinane C.M., Cotter P.D., Hill C. & Ross P.: **A review: microbial solutions to microbial problems; lactococcal bacteriocins for the control of undesirable biota of food.** *J. Appl. Microbiol.* 2005, 98: 1316-1325.
87. Helander M., Latva-Kala K. and Lounatmaa K. : **Permeabilizing action of polyethyleneimine on *Salmonella typhimurium* involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide.** *Biotechnology and Food.* 1997, 144 (2): 385-390.
88. Henderson A., Anderson D., Neilson D. and Hunter E.: **The effect of commercial inoculants at two levels and Add-F on the chemical characteristics and utilization of ryegrass silages over two seasons.** Proc. 8th silage Conference, Hurley, 1987: 13-17.
89. Hobbs G.: **Microbial spoilage of fish.** *In: Food Microbiology Advances and prospects.* Academic Press (Ed), London. *The society for applied bacteriology symposium*, 1983, 11: 217-229.
90. Howell T. H., Fiorellini, J. P., Blackburn, P., Projan, S. J., de la Harpe, J., and Williams, R.C. (1993) **The effect of a mouthrinse based on nisin, a bacteriocin, on developing plaque and gingivitis in beagle dogs.** *J Clin Periodontol.* 20: 335-339.
91. Hugas M., Monfort J.: **Bacterial Starter cultures for meat fermentation.** *Food Chem.* 1997, 59: 547-554.
92. Irving J., Elmar H., John I. and Pfenosil J. E.: **Biological reaction and engineering,** in: *Dynamic Modelling Fundamentals with Simulation Examples* First Edition 1992. 2000: 57-59.
93. Ishikawa K. : **La gestion de la qualité : Outils et applications pratiques.** In : *Qualité des produits alimentaires.* J. L. Multon; 2^{ème} édition. Paris : Dunod 1994.
94. Iwamoto M., Yamanaka H., Watabe S. & Hashimoto K.: **Effect of Storage Temperature on Rigor-Mortis and ATP Degradation in Plaice *Paralichthys olivaceus* Muscle.** *Blackwell Publishing Ltd* 1987, 52: 1514-1517.

95. Jack R. W., Tagg J. R. and Ray B.: **Bacteriocins of gram-positive bacteria.** *Microbiological reviews.* 1995, 59 (2): 171-200.
96. Jacob, F., Lwoff, A., Simminovitch, A. and Wollman E.: **Definition de quelques termes relatifs a la lysogenie.** *Annales de l'Institut Pasteur (Paris)* 1953, 84 : 222-224.
97. Jimenez-Diaz R., Rios-Sanchez., Desmazeaud M., Ruiz-Barba J. and Piard J.: **Plantricin S and T Two new bacteriocins produced by Lactobacillus plantarum LPC 10 isolate from a green olive fermentation.** *Appl. Environ. Microbiol.* 1993, 59: 1416-1424.
98. Jung G.& Shal H.: **Lantibiotics-a survey.** In **Nisin and Novel Lantibiotics.** Edited by ESCOM, Leinden. *The Netherlands*, 1991: 1-34.
99. Kabara J., Eklund T., Russel N.J. and. Gould G. W.: **Organicacids and esters.** In: **Food Preservatives.** (Eds.), Blackie, London 1991: 44-71.
100. Kaiser A.L. and Montville T.J.: **The influence of pH and growth rate on production of the bacteriocin, bavaricin MN, in batch and continuous fermentations.** *Journal of applied Bacteriology* 1993, 75: 536-540.
101. Kamal-Eldin A. and Yanishlieva N.V.: **N-3 fatty acids for human nutrition: Stability considerations.** *European Journal of Lipid Science and Technology* 2002, 104 (12): 825-836.
102. Klaenhammer T. R., Allison G. E.: **Phage resistance mechanisms in lactic acid bacteria.** *Int Dairy J* 1998, 8: 207-226.
103. Klaenhammer T.: **Bacteriocins of lactic acid bacteria.** *Bioch* 1988, 70: 337-349.
104. Klaenhammer, T.R.: **Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria.** *FEMS Microbiology Reviews* 1993, 12: 39-85.
105. Kandler O.: **Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria.** *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1983, 49: 202-224.
106. Kleerebezem, M. & Quadri, L. E.: **Peptide pheromone-dependent regulation of antimicrobial peptide production in Gram-positive bacteria: a case of multicellular behavior.** *Peptides*, 2001, 22, 1579–1596.
107. Kleerebezem M.: **Quorum sensing control of lantibiotic production; nisin and subtilin autoregulate their own biosynthesis.** *Peptides*, 2004, Pages 1405–1414 Volume 25, Issue 9.
108. Kong S., Davidson A.: **The role of interaction between O₂, H₂, OH and O₂ in free radical damage to biological systems.** *ArchBiochem. Biophy* 1980, 204: 13-14.
109. Kordel, M., Schuller, F. and Sahl, H.G.: **Interaction of the pore forming-peptide antibiotics Pep 5, nisin and subtilin with non-energized liposomes.** *FEBS Letters* 1989, 244: 99-102.
110. Kouakou P. & Thonart P.: **Enhancing the antilisterial effect of *L. curvatus* CWBI-B28 in pork meat and cocultures by limiting bacteriocin degradation.** *Meat Sci*, 2008, 80(3): 640-648.
111. Kramer A. and Twigg B.: **Fundamentals of Quality Control in the Food Industry.** *The AVI Publishing Co., Inc., Westport.* Connecticut 1962.
112. Kruszewska D., Sahl H. G., Bierbaum G., Pag U., Hynes S. O. and Ljungh A.: **Mersacidin eradicates methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a mouse rhinitis model.** *J Antimicrob Chemother* 2004, 54: 648-653.

113. Landry Ekouala: **Le développement durable et le secteur des pêches et de l'aquaculture au Gabon : une étude de la gestion durable des ressources halieutiques et de leur écosystème dans les provinces de l'Estuaire et de l'Ogooué Maritime.** Thèse de doctorat 2013. Université du Littoral Côte d'Opale, Ecole doctorale SESAM (E.D n°73), Laboratoire T.V.E.S (E.A n°4477).
114. Larsen J., Jensen N. and Christensen N.: **Water pollution and the ulcer syndrome in the cod (*Gadus morhua*).** *Veterinary Research Communications* 1978, 2(1): 207-216.
115. Leduc F.: **Evaluation de la qualité des poissons frais par des approches chimiques.** Thèse de doctorat en sciences de la vie et de la santé ; Université des Sciences et Technologies de Lille 1, École doctorale biologie et sante, 2011, n° ordre : 40 769.
116. Leistner L.: **Basic aspects of food preservation by hurdle technology.** *Inter J Food Microbiol* 2000, 55: 181-186.
117. Leistner L.: **Hurdle effect and energy saving.** In: Downey W.K., ed. **Food quality and nutrition.** London: *Applied Science Publishers* 1978: 553-557.
118. Leroi F.: **Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products.** *Food Microbiology*, 2010, 27 (6): 698-709.
119. Leroy F. and De Vuyst L.: **Growth of bacteriocin-production *Lactobacillus sakei* strain CTC494 in MRS broths strongly reduced due to nutrient exhaustion: a nutrient depletion model for the growth of lactic acid bacteria.** *Appl Environ Microbiol* 2001, 67: 4407-4413.
120. Leroy F.: **Sugars relevant for sourdough fermentation stimulate growth of and bacteriocin production by *L. amylovorus* DCE 471.** *Int J Food Microbiol* 2006, 12: 102-111.
121. Lewus CB., Kaiser A. and Montville TJ.: **Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat.** *Appl Environ Microbiol* 1991, 57: 1683-1688.
122. Lindgren S. and Dobrogosz W.: **Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations.** *FEMS Microbiol Rev* 1990, 87: 149-163.
123. Liston, J. and Connell J.J.: **Microbiology in fishery science.** In: **Advances in Fishery Science and Technology.** (Ed.), Fishing News Books, Farnham, England. 1980: 138-157.
124. Love, R.M.: **Variability in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) from the Northeast Atlantic: a Review of Seasonal and Environmental Influences on Various Attributes of the Flesh.** *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 1975, 32(12): 2333-2342.
125. Lundstrom R.C., Correia F.F. and Wilhelm K.A.: **Enzymatic dimethylamine and formaldehyde production in minced American plaice and blackflounder mixed with a red hake TMAO-ase active fraction.** *Journal of Food Science* 1982, 47: 1305-1310.
126. Makhloufi K.M. : **Caractérisation d'une bactériocine produite une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza.** Thèse de doctorat en microbiologie et biochimie ; Université Pierre et Marie Curie, 2011.

127. Marciset, O., Jeronimus-Stratingh, M. C., Mollet, B., and Poolman, B.: **Thermophilin 13, a nontypical antilisterial poration complex bacteriocin that functions without a receptor.** *J Biol Chem* 1997, 272: 14277-14284.
128. Martinez B., Fernandez M., Michael E., Stiles M.: **Synthesis of lactococcin 972, a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* IPLA 972, depends on expression of a plasmid-encoded bicistronic operon.** *Microbiol* 1999, 145: 3155-3161.
129. Martinez J.M., Kok J., Sanders J.W. and Hernandez P.E.: **Heterologous coproduction of enterocin A and pediocin PA-1 by *Lactococcus lactis*: detection by specific peptide-directed antibodies.** *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66: 3543-3549.
130. Martinez R.C.R. and De Martinis E.C.P.: **Antilisterial activity of a crude preparation of *Lactobacillus sakei* 1 bacteriocin and its lack of influence on *Listeria monocytogenes* haemolytic activity.** *Food Control* 2005, 16: 429-433.
131. Mataragas M., Drosinos E.H., Tsakalidou E. & Metaxopoulos J.: **Influence of nutrients on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *L. curvatus* L442.** *Antonie van Leeuwenhoek* 2004, 85: 191-198.
132. Mataragas M., Metaxopoulos J., Galiotou M. & Drosinos E.H.: **Influence of pH and temperature on bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *L. curvatus* L442.** *Meat Sci* 2003,64: 265-271.
133. McAuliffe O. & Hill C.: **Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action.** *FEMS Microbiol Rev.* 2001, 25, 285-308.
134. Messens w., Verluyten J., Leroy F. and De Vuyst L.: **Modelling growth and bacteriocin production by *Lactococcus curvatus* LTH1174 in response to temperature and pH values used for European sausage fermentation processes.** *Int J food Microbiol* 2003, 81: 41-52.
135. Miossec A.: **De l'aménagement des littoraux à la gestion intégrée des zones côtières.** 1998, pp.413-462., in Géographie humaine des littoraux maritimes, Paris, NED/SEDES, 471 p.
136. Mogensen G.: **Realities and trends in probiotic attributes of lactic acid bacteria and their market impact:** in Actes du Colloque Lactic 94 Caen 7-9 septembre 1994: 175-185.
137. Moll G., Robert C., Konings W. and Driessen A.: **Mechanism of lanbiotic-induced pore-formation.** *Antonie Van Leeuwenhoek.* 1996, 69: 185-191.
138. Mombelli A., Schmid B., Rutar A. and Lang N.P.: **Persistence patterns of *porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomyetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease.** *J periodontal*; 2000, 71: 14-21.
139. Montville T., Winkowski K. and Ludescher R.: **Models and mechanisms for bacteriocin action and application.** *International Dairy Journal* 1995, 5: 797-814.
140. Montville T.J., Chen Y., Ludescher R.D.: **Influence of lipid composition on pediocin PA-1 binding to phospholipid vesicles.** *Applied and Environmental Microbiology* 1998, 64: 3530-3532.
141. Moretro T., Aasen I.M., Storro I. & Axelsson L.: **Production of sakacin P by *L. sakei* in a completely defined medium.** *J Appl Microbiol* 2000, 88(3): 536-545.

142. Morgan S., Galvin M., Kelly J. and Ross R.: **Developpement of a lacticin 3147 enriched whey powder with inhibitory activity against foodborne pathogens.** *J Food Prot* 1999, 62: 1011-1016.
143. Motlagh A., Holla M.S., Johnson M.C., Rayand B. and Field, R.A.: **Inhibition of *Listeria spp.* in sterile food systems by pediocin AcH, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* H.** *Journal of Food Protection* 1992,55: 337-343.
144. Mouna B., Chedia A., Melika M., olfa b. M., Ines E. and Mnasser H.: **Characterisation, identification and technological properties of psychotrophic lactic acid bacteria originating from tunisian fresh fish.** *Journal of Food Safety* 2012, 32 (3):333–344.
145. Multon J. L., Arthaud J. F. et Soroste A. : **La qualité des produits alimentaires : politiques, incitations, gestion et contrôle ; 2ème édition** 1994 : 1-105.
146. Murray C. K. and Fletcher T.C.: **The immunohistochemical localization of lysozyme in plaice (*Pleuronectes platessa* L.) tissues.***Journal of Fish Biology* 1976, 9(4): 329-334.
147. Murray C. K., Shewan J. M.: **The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychophiles: In cold-tolerant microbes in spoilage in the environment** 1979.
148. Murray M., Richard J.A.: **Comparative study of the antilisterial activity of nisin A and pediocin AcH in fresh ground pork stored aerobically at 5°C.** *Journal of Food Protection* 1997, 60: 1534-1540.
149. Nes, I.F., Diep, D.B., Håvarstein, L. S., Brurberg, M.B., Eijsink, V. and Holo, H.: **Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria.** *Antonie Van Leeuwenhoek* 1996, 70: 113-128.
150. Nielson J. and Dichson J.: **Use of a bacteriocin produced by *pediococcus acodilactici* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat.** *Appl Environ Microbiol* 1990, 56: 2124-2145.
151. O'kiely P.: **Evaluation of *Lactococcus* inoculants as an additive for silage to heifers.** *British Society of Animal Production.* Winter Meeting 1990, Paper nr 136.
152. O'Sullivan L., Ross R. P. and Hill C.: **Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements.***Food safety and quality* 2002, 84: 593-604.
153. O'Leary W.M. and Wilkinson S.G.: **Gram-positive bacteria.** In: **Ratledge, C. and Wilkinson, S.G. () (Eds.), Microbial Lipids.** Academic Press, New York, pp. 1988, 1: 117-201.
154. Ouattara B. : **Etude de la qualité bactériologique des filets de poissons congelés.** Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, Dakar 1980.
155. Papagianni M.: **Ribosomally synthesized peptides with antimicrobial properties: biosynthesis, structure, function, and application.** *Biotech Advances* 2003, 21: 456-499.
156. Parente E. & Ricciardi A.: **Production, recovery and purification of bacteriocins from lactic acid bacteria.** *Appl Microbiol Biotechnol* 1999, 52: 628-638.
157. Pèrez Guerra N.: **Fed-batch pediocin production by *Pediococcus acidilactici* NRRL B-5627 on whey.** *BiotechnolAppl Biochem* 2005, 42: 17-23.

158. Ray B.: **Sublethal injury, bacteriocins and food microbiology**. *ASM News*, 1993, 59: 285-291.
159. Règlement (CEE) n° 100/76 du Conseil, du 19 janvier 1976, portant organisation commune des marchés dans le secteur des produits de la pêche 1976.
160. Rogers L. A.: **The Inhibiting Effect of *Streptococcus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus***. *J Bacteriol* 1928, 16: 321-325.
161. Ross R., Morgan S. and Hill C.: **Preservation and fermentation: Past, Present and Future**. *Int J food Microbiol* 2002, 79, 3-19.
162. Ruskol D. and Bendtsen P.: **Invasion of *S.putrefaciens* during spoilage of fish**. Technological Laboratory and the Technical University Denmark 1992.
163. Sahl H., Jack W. and Bierbaum G.: **Biosynthesis and biological activities of lantibiotics with unique post-translation modification**. *Eur J Biochem* 1995, 230: 872-853.
164. Sakaguchi G. and Ohishi I.: **Oral toxicities of Clostridium botulinum type C and D toxins of different molecular sizes**. *Infect Immun* 1980, 28: 303-309.
165. Salminen S., Ouwehand A., Benno Y. and Lee Y.-K.: **Probiotics: How should they be defined?** *Trends Food Sci Technol* 1999, 10: 107-110.
166. Salminen S., Bouley M.C., Boutron-Ruault M.C., Cummings J., Franck A., Gibson G., Isolauri E., Moreau M. C., Roberfroid M. and Rowland I.: **Functional food science and gastrointestinal physiology and function**. *Brit J Nutr Suppl* 1998, 1: 147-171.
167. Savijoki K., Ingmer H. & Varmanen P.: **Proteolytic systems of lactic acid bacteria**. *Appl Microbiol Biotechnol* 2006, 71: 394-406.
168. Scannell A.G.M., Hill C., Ross R.P., Marx S., Hartmeier W., and Arendt E.K.: **Development of bioactive food packaging materials using immobilised bacteriocins Lacticin 3147 and Nisaplin (R)**. *Int J Food Microbiol* 2000, 60: 241-249.
169. Schöbitz R., Suazo V., Costa M. and Ciampi L.: **Effects of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Carnobacterium piscicola* against human and salmon isolates of *Listeria monocytogenes***. *Int J Food Microbiol* 2003, 84: 237-244.
170. Schulz A., Ehling-Schulz M., Svensson B., Guinebretiere M.H., Lindbäck T., Andersson M., Fricker M., Christiansson A., Granum P.E., Märtilbauer E., Nguyen-The C., Salkinoja-Salonen M. & Scherer S. **Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains**. *Microbiology* 2005, 151(1):183-197.
171. Sheridan M.A.: **Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization**. *Comp Biochem Physiol* 1988, 90: 679-90.
172. Shewan J. M. and Murray C. K.: **The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychophiles. In cold-tolerant microbes in spoilage in the environment**. Londres: *Academic Press* 1979.
173. Shewan, J.M.: **The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes**. *Recent Advances in Food Science* 1962, 1: 167-193.
174. Shewan, J.M.: **The microbiology of fish and fishery products-a progress report**. *Journal of Applied Bacteriology* 1971, 34: 299-315.

175. Sikorski Z.E., Lolakowska A. and Pan B.S.: **The nutritive composition of the major groups of marine food organisms**, Boca Raton, Florida: **Resources Nutritional Composition and Preservation**. *CRC Press-Inc* 1990: 30–52).
176. Song H.J. and Richard J.: **Antilisterial activity of three bacteriocins used at sub minimal inhibitory concentrations and cross-resistance of the survivors**. *Int J Food Microbiol* 1997, 36: 155-161.
177. Soudan F., Anquez M. and Benezit A.: **La conservation par le froid des poissons, Crustacées et Mollusques** 1962 : 5 – 90
178. Stagg N.J., Amato P.M., Giesbrecht F. and Lanier T.C.: **Dégradation autolytique du thon listao au cours du chauffage : influence de la qualité initiale et des conditions de traitement**. *Journal of food science*, 2012, 77 (2) : 149-155.
179. Stiles M. E.: **Biopreservation by lactic acid bacteria**. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1996, 70:331-345.
180. Stroem, A.R., Olafsen J.A., and Larsen H.: **Trimethylamine oxide: a terminal electron acceptor in anaerobic respiration of bacteria**. *Journal of General Microbiology* 1979, 112: 315-320.
181. Tagg J. R.: **Prevention of streptococcal pharyngitis by anti-Streptococcus pyogenes bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by Streptococcus salivarius**. *Indian J Med Res* 2004, 119: 13-16.
182. Tagg J. R., Jack R. W. and Ray B.: **Bacteriocins of gram-positive bacteria**. *Microbiological reviews*. 1995, 59 (2): 171-200.
183. Thomas, L. V., Clarkson, M. R., and Delves-Broughton, J.: **Nisin**. In: **Naidu, A. S. (Eds). Natural Food Antimicrobial Systems**. *CRC-Press. F. L.* 2000:463-524.
184. Thonart P.: **Les applications des bactéries lactiques**. In: **Séminaire sur la sélection, la production et le conditionnement des ferments lactiques**. Tunis, 27 octobre 1997.
185. Todorov S.D. and Dicks L.M.T.: **Pediocin ST18, an anti-listerial bacteriocin produced by Pediococcus pentosaceus ST18 isolated from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria**. *Process Biochemistry* 2005, 40: 365-370.
186. Twomey D., Ross R.P., Ryan M., Meaney B., and Hill C.: **Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications**. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2002, 82: 1-4, 165-185.
187. Van Kraaij C., Breukink E., Noordermeer M.A., Demel R.A., Siezen R.J., Kuipers O.P. and de Kruijff B.: **Pore formation by nisin involves translocation of its C-terminal part across the membrane**. *Biochemistry* 1998, 37, 16033-16040.
188. Van Kraaij, C., Breukink, E., Rollema, H.S., Siezen, R.J., Demel, R.A., de Kruijff, B. and Kuipers, O.P.: **Influence of charge differences in the C-terminal part of nisin on antimicrobial activity and signaling capacity**. *European Journal of Biochemistry* 1997, 247: 114-120.
189. Verluyten J. Leroy F. and De Vuyst L.: **Influence of complex nutrient source on growth of and curvacin A production by sausage isolate *Lactobacillus curvatus* LTH 1174**. *Appl Environ Microbiol* 2004, 70: 5081-5088.
190. Verluyten J., Leroy F. & De Vuyst L.: **Influence of complex nutrient source on growth of and curvacin A production by sausage isolated *L. curvatus* LTH 1174**. *Appl Environ Microbiol* 2004, 70: 5081-5088.

191. Vermeiren L., Devlieghere F. & Debevere J.: **Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products.** *Int J Food Microbiol* 2004, 96(2): 149-164.
192. Wan J., Harmak K., Davidson B.E., Hiller A.J., Gordon J.B., Wilcock A., Hickey, M.W. and Coventry M.J.: **Inhibition of *Listeria monocytogenes* by psicocolin 126 in milk and camembert cheese manufactured with a thermophilic starter.** *Journal of Applied Microbiology* 1997, 82: 273-280.
193. Westerdahl, A., Olsson J.C., Kjelleberg S. and Conway P.L.: **Isolation and characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*)-associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*.** *Appl Environ Microbiol* 1991,57 (8):2223-2228.
194. Wiedemann I., Breukink E., Van Kraaij C., Kuipers O., Bierbaum G., de Kruijff B. and Sahl, H.-G.: **Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II combines pore formation and the inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity.** *Journal of Biological Chemistry* 2001, 276: 1772-1779.
195. Wijaya A., Neudeker C., Holzapfel W. & Franz C.: **Influence of bacteriocin-producing *Enterococcus faecalis* BFE 1071 on *Lactobacillus* spp. in the rat gastrointestinal tract.** In: *Proceedings of Food Micro*, University of Bologna, Italy August 2006: 124.
196. Wood J., Holzapfel W.: **The lactic acid bacteria., The genera of lactic acid bacteria.** *Blackie academia and professional*, Glasgow 1995 vol.2.
197. Yamazaki K., Murakami M., Kawai Y., Inoue N. and Matsuda T.: **Use of nisine for inhibition of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in acidic drinks.** *Food Microbiol* 2000,17: 315-320.
198. Yang R. and Ray B.: **Factors influencing production of bacteriocins lactic acid bacteria.** *Food Microbiol* 1994, 11: 281-291.

Nom : DIENG

Prénom: Modou

Titre de la thèse : Utilisation des bactéries lactiques dans l'amélioration des conditions de conservation des produits de la pêche artisanale au Sénégal : exemple de *Lactococcus lactis* CWBI-B1410.

Date et lieu de soutenance : 30 décembre 2013 à l'Ecole Supérieure Polytechnique de Dakar : ESP / UCAD

JURY:

Président :	Cheikh Saad Bouh BOYE	Professeur Titulaire, FMPOS/UCAD
Rapporteurs :	Papa NDIAYE	Directeur de Recherches, IFAN/ UCAD
	Samba NDAO SYLLA	Professeur Titulaire, FST/UCAD
	Marc LABAT	Directeur de Recherches, IRD/Marseille
Examineurs :	Germain Jérôme SAWADOGO	Professeur Titulaire, EISMV/UCAD
	Falilou MBACKE SAMBE	Maître de Conférences, ESP/UCAD
Directeur :	Ndèye Coumba TOURE-KANE	Professeur Titulaire, ESP/UCAD

RESUME :

Les conditions d'hygiène de la pêche artisanale au Sénégal ne respectent pas toujours les normes de qualité requises. Ce travail se propose d'abord d'étudier la qualité de trois espèces de poissons démersaux ; la sole limande (*Syacium guineensis*), le mérou à points bleus (*Cephalopholis taeniops*) et le rouget (*Pseudupeneus prayensis*) débarqués par la pêche artisanale, depuis la capture jusqu'à leur acheminement en usine. Ces différentes étapes constituent des sources de contamination des produits de la pêche par les microorganismes. Face à cette situation, les industriels utilisent de plus en plus des techniques basées sur l'activité antimicrobienne naturelle associée à des souches bactériennes agissant comme des cultures protectrices d'où l'utilisation dans ce travail de la souche de *Lactococcus lactis* CWBI-1410 pour améliorer les conditions de conservation des filets de poisson. L'évaluation sensorielle de la fraîcheur du poisson a consisté à tester la qualité par le toucher, l'odorat, la vue et le goût. Le dosage de l'azote basique volatil total (ABVT) a permis de déterminer la teneur totale en azote des bases azotées volatiles résultant de la dégradation des composés azotés du poisson lors de l'altération. La méthode d'analyse microbiologique utilisée est celle qui consiste à incorporer un volume donné de la prise d'essai et de ses dilutions dans un milieu de culture solide. Les conditions de culture de *Lactococcus lactis* CWBI-1410 ont été optimisées grâce à la variation de la concentration de certains constituants du milieu de culture MRS, comme le glucose et la matière azotée. Cela a permis d'évaluer l'effet antimicrobien du surnageant de culture. A l'analyse sensorielle, les trois espèces, aux différentes étapes, étaient de très bonne qualité. Les valeurs de la flore mésophile aérobie sur le poisson à la capture sont très faibles contrairement au débarquement et à l'entrée en usine. Au niveau des branchies et de la peau, les résultats montrent une augmentation significative de la flore au débarquement et à l'entrée en usine. Au niveau des viscères, la flore augmente jusqu'au débarquement puis décroît. Les résultats des analyses chimiques ne reflètent pas forcément les risques de dégradation du poisson. La deuxième partie de l'étude a révélé que la production de biomasse par la souche de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410 peut être améliorée grâce à une reconstitution du milieu MRS avec des concentrations de 15g /l de glucose et de 40 g/l en matière azotée. Cette modification de la composition du milieu MRS standard améliorerait l'activité antimicrobienne de *Lactococcus lactis* CWBI B-1410.

Mots-clés: pêche artisanale, Sénégal, poisson, *Lactococcus lactis* CWBI B-1410, optimisation, glucose, matière azotée, bioconservation.