5 - 12 INTERACTION LACTOBACILLUS SP. - BROCHOTHRIX THERMOSPHACTA

appropriate to except bedderight provided

decemblalogy that aloropial deterination can trace place in a food-with-alwesnt mays brically is very low openered with envilager reverse by beckenia, a Tois meson though that

FOURNAUD* Jeanne, LAURET* Roberte, SECHET** Jean * INRA-CNRZ, 78350 JOUY EN JOSAS -** Université de Bordeaux I, 33400 TALENCE (France)

L'effet inhibiteur des lactobacilles sur les autres bactéries a été très souvent décrit. Ce phénomène a été attribué à la formation d'acide lactique (Tramer 1966, Grau 1980), de peroxyde d'hydrogène (Wheather et al 1952) et de substances antibiotiques (Vincent et al 1959). Cependant Talon et al observent que ni l'acidité du milieu ni le peroxyde d'hydrogène ne sont responsables du phénomène. Le de ce travail est de voir s'il n'y aurait pas compétition entre les 2 bactéries pour un métabolité intermédiaire. intermédiaire.

Souches: Elles ont été isolées au hasard à partir de viande de cheval conservée 4 semaines sous vides sur mîlieu TVG 5(P) (Fournaud et al 1973) pour le lactobacille et sur milieu de Gardner pour thrix. Elles sont conservées à -24°C en présence de 20% de glycerol. Expérimentation: Les cultures sont réalisées à 25°C dans le milieu: extrait de viande 1%, proteosé peptone 1%, peptone 0,5%. Le glucose, stérilisé par filtration, est mis dans le milieu après autoclavage à raison de 0,5%. Il est ajouté en cours de culture en fonction des besoins. Le pH ajusté à vest maintenu constant par de la soude (2N) stérilisée par filtration. Pour certains essais ont été joutés de la catalase stérile (NBC) 5 000 siérilisée par filtration. Pour certains essais ont été protection des des la catalase stérile (NBC) 5 000 siérilisée par filtration. est maintenu constant par de la soude (2N) stérilisée par filtration. Pour certains essais ont été est poutés de la catalase stérile (NBC) 5 000 unités % ou du sulfate de manganèse 5mg%. L'anaerobiose réalisée par barbottage d'azote (pureté 99,9998%).

réalisée par barbottage d'azote (pureté 99,9998%).

Dénombrement : Pour le lactobacille sur TVG 5(P) et LBS (BBL), pour Brochothrix sur TVG 5(P) et de Gardner. La néphélométrie exprimée en NTU est suivie à l'aide d'un néphélomètre EIL.

Dosage : Pyruvate selon Friedmann et Baugen (1943), lactote selon fundament de la lactote selon fun Dosage: Pyruvate selon Friedmann et Haugen (1943), lactate selon Ayroulet-Martin et Fournaud (1979), pe Loxyde d'hydrogène par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M), superoxyde dismutase selon McCord et Pride par o'tolidine et peroxydase (sensibilité 3 x 10⁻⁵M). cord et Pridovich (1969), NADH peroxydase selon Walker et Kilgour (1965).

BESULTATS-DISCUSSION

répression de *Brochothrix* par *Lactobacillus* dépend de l'oxygène (fig. 1) : importante en anaerobioe epression de *Brochothrix* par *Lactobacillus* dépend de l'oxygène (fig. 1) : importante en anacionacion de *Brochothrix* par *Lactobacillus* dépend de l'oxygène (fig. 1) : importante en anacionacion de comme l'ont déjà indiqué Roth et Clark (1975), Newton et Gill (1978), Shay et al (1984), elle n'apparait en semi-aerobiose qu'au niveau de la phase stationnaire. En réalité dans ce dernier cas l'inhibition doit de la culture des 2 bactéries de la phase stationnaire. En réalité dans ce dernier cas i inition doit commencer avant la fin de la phase log : à 24 h, le trouble de la culture des 2 bactéries mélange (100 NTU) se trouve nettement inférieur à celui de la culture pure de Brochothrix : 280 All i la culture du lactobacille seul pour sa part donne une opacité de 50 NTU. De même la teneur en la culture du lactobacille seul pour sa part donne une opacité de 50 NTU. De même la teneur en la culture de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité pour la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité pour de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité pour de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité plus de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité plus de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité de la culture de la culture mixte est plus faible que celle de Brochothrix (tableau 1) indiquant une activité de la culture de la c de la culture mixte est plus faible que celle de *Brochothrix* (tableau 1) indiquant de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs toujours moindre que celle de la culture mixte reste d'ailleurs d'aill cellolique moindre. La teneur en lactate de la culture mixte reste d'allleurs toujours moindre de la culture de la culture pure de Brochothrix (tableau 1). On ne peut donc invoquer ce composé pour expliquer l'inhibition de Brochothrix.

parallèlement à la disparition de *Brochothrix* on observe, dans les cultures mixtes, une meilleure oissance de la disparition de *Brochothrix* on observe, dans les cultures mixtes, une meilleure Parallèlement à la disparition de Brochothrix on observe, dans les cultures mixtes, une meritere croissance du lactobacille; en semi aerobiose, on constate, pour cette dernière bactérie, l'établis-thrix d'une phase stationnaire, phase stationnaire qui n'existe pas en culture pure (fig. 1). Brochotix aurait d'une phase stationnaire sur Lactobacillus. Il y a donc interaction entre les deux bacteries de la constant de la cons theix aurait donc une action favorisante sur *Lactobacillus*. Il y a donc interaction entre les deux bacteries

Comme pour Newton et Gill (1978) il n'a pas été possible de mettre en évidence de substance inhibi-ce dans la resultante n'a été isolée de celle Comme pour Newton et Gill (1978) il n'a pas été possible de mettre en évidence de substance innibide Brochothrix. La présence de la cellule vivante apparait indispensable comme l'on déjà montré de nomlahi, auteurs dent paraère et al (1978). Les substances en cause paraissent donc être transitoires et breux auteurs de l'accountries. Le présence de la cellule vivante apparait indispensable comme l'on deja montre de noi breux auteurs dont Bergère et al (1978). Les substances en cause paraissent donc être transitoires et la labiles. Parmi ce type de composé se trouve le peroxyde d'hydrogène d'ailleurs souvent mis en cause responsable d'intition donnée par les bactéries lactiques. COMME responsable d'inhibition donnée par les bactéries lactiques.

responsable d'inhibition donnée par les bactéries lactiques.

L'adjonction de catalase à la culture mixte amplifie la décroissance de Brochothrix au lieu de la ture mixte (fig. 2A). A 6 jours il reste seulement 46 bactéries/ml au lieu de 8,7 x 10 ml dans la culture mixte amplifie de Brochothrix entraîne son déclin Primer (fig. 2A). A 6 jours il reste seulement 46 bactéries/ml au lieu de 8,7 x 10 /ml dans déclin spress la fix es sans catalase. La catalase additionnée à la culture pure de Brochothrix entraine son déclin la sans catalase. La catalase additionnée à la culture pure de Brochothrix entraine son déclin la sans catalase. La catalase additionnée à la culture pure de Brochothrix entraine son déclin la sans catalase. mixte sans catalase. La catalase additionnée à la culture pure de *Brochothrix* entraîne sun destruction de la phase log (fig. 2A). *Brochothrix* aurait donc besoin d'H₂O₂ pour sa survie puisque la destruction de ce composé provoque la suppression de sa phase stationnaire.

Con note de la catalase sur la croissance du lactobacille apparait peu perceptible en culture pu-On note seulement une très légère accélération de la décroissance entre le 2ème et le 6ème jour g. 2Å) (ig. note seulement une très légère accélération de la décroissance entre le zeme et le demoissance se trouve moins en culture mixte la phase stationnaire est supprimée mais la décroissance se trouve moins en culture mixte la phase stationnaire est supprimée mais la décroissance se trouve moins en culture mixte la phase stationnaire est supprimée mais la décroissance prive en partie le la contra de la con (8. 2A). Seulement une tres legere deconstant la décroissance se trouve mois la décroissance se trouve mois les culture mixte la phase stationnaire est supprimée mais la décroissance se trouve mois la culture de la compactific de la catalase prive en partie le lacture de la compactific de la catalase prive en partie le lacture de la catalase prive en partie la catalase prive en tonde que dans les cultures pures avec ou sans catalase (fig. 2A). La catalase prive en partie la catalase prive en partie de catalase prive e r la même de l'action stimulante due à *Brochothrix*. Un peut donc pense. La même qu'il y a compétition entre les 2 bactéries pour ce substrat.

La formation du peroxyde d'hydrogène dépend de la supéroxyde dismutase (SOD) (Mc Cord et Fridovich

1969). Cette enzyme catalyse la dismutation des ions 0 libérés en particulier au cours des réactions à Manganèse des flavoprotéines (Massey et al 1969, Bruice 1984). Les deux bactéries renferment une SOD du lactobacille varie en fonction de la quantité de manganèse présent dans la culture : 0,66 unités/mg 10 M de Mn+ dans le milieu qui contient 0,91 x 10 M M m+ 18 unités/mg de protéines pour 0,91 x comme pour L plantarum.

L'adjonction de 0 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seul la formation de 10 91 x 10 M de manganèse présent de Brochothrix. A 24 h il est Pour L. plantarum.

L. plantarum.

Med Jonction de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour le lactobacille seul la formation de 0,91 x 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour la formation de 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour la formation de 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour la formation de 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour la formation de 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour la formation de 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour la formation de 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour la formation de 10⁻⁴ M de manganèse au milieu entraîne pour la formation de 10⁻⁴ M de 10⁻ l'adjonction de 0,91 x 10 4 M de manganèse au milieu entraine pour le lactobacille seur la localité phase stationnaire (fig. 2B) similaire à celle produite en présence de Brochothrix. A 24 h il est plant de la traces de peroxyde d'hydrogène. En culture mixte, la présence de l'hydrogène l'hydrogène l'hypothèphase stationnaire (fig. 2B) similaire à celle produite en présence de Brochothia, h 21.

Possible de mettre en évidence des traces de peroxyde d'hydrogène. En culture mixte, la présence de se mettre en évidence des traces de peroxyde d'hydrogène. En culture mixte, la présence de se mettre en évidence des traces de peroxyde d'hydrogène. En culture mixte, la présence de se mettre en évidence des traces de peroxyde d'hydrogène. En culture mixte, la présence de se mettre en évidence des traces de peroxyde d'hydrogène. En culture mixte, la présence de se mettre en évidence des traces de peroxyde d'hydrogène. Possible et mettre en évidence des traces de peroxyde d'hydrogène. En culture mixte, la présence de saganèse supprime complètement l'inhibition de Brochothrix (Fig. 2B). Ce résultat confirme l'hypothè-bans les cultures mixtes le lactobacille synthétise difficilement en l'absence du manganèse. Les cultures mixtes le lactobacille prélèverait et utiliserait donc H₂O produit par Brochothix. Les bactéries lactiques peuvent utiliser H₂O en apport extra cellulaire (Seeley et Rio Estrada duerait les systèmes transporteurs d'élections seraient alors modifiés au niveau du pyruvate qui n'évocota plus en lactate mais participerait à d'autres synthèses : acide acetique, (Britton et al 1978, Les bactéries lactiques peuvent utiliser H.O. en apportuir. Les systèmes transporteurs d'élections seraient alors modifiés au niveau du pyruvate qui n'evolaciet et plus en lactate mais participerait à d'autres synthèses : acide acetique, (Britton et al 1978,
laciet al 1980) ou d'acetyl coenzyme A (Anders et al 1970). Un tel système doit exister chez le lactolaciet al 1980) ou d'acetyl coenzyme A (Anders et al 1970). Un tel système doit exister chez le lactolaciet al 1980) ou d'acetyl coenzyme A (Anders et al 1970). Un tel système doit exister chez le lactolacter du pyruvate résiduel apparait dans le milieu en 48 h en présence de manganèse ou de Brochola tableau 2) La bactérie qui possède une NADH peroxydase l'utiliserait pour reformer le NAD pluthile car du pyruvate résiduel apparaît dans le milieu en 48 h en présence de mangament du tôt (tableau 2). La bactérie qui possède une NADH peroxydase l'utiliseraît pour reformer le NAD plusite de nédez. La bactérie qui possède une NADH peroxydase l'utiliseraît pour reformer le NAD plusite de nédez. que de réduire le pyruvate en lactate. Quant à Brochothrix dépourvu de cytochrome C, il manque d'un de formation d'ATP. Cet ATP pourrait provenir de phosphorylation parties ste de réduire le pyruvate en lactate. Quant a Brochetti.

la formation d'énergie pour la formation d'ATP. Cet ATP pourrait provenir de phosphorylation paste de formation d'énergie pour la formation d'ATP. Cet ATP pourrait provenir de phosphorylation paste d'a à l'oxydation du NADH par NADH peroxydase et H₂O₂. Cependant il n'a pas été possible de mettre
stontance une NADH peroxydase chez Brochothrix. L'oxydation pourrait alors être celle d'une réaction
L'inée d'une NADH peroxydase chez Brochothrix. L'oxydation pourrait alors être celle d'une réaction
L'inée d'une NADH peroxydase chez Brochothrix. L'oxydation pourrait alors être celle d'une réaction
L'inée d'une NADH peroxydase chez Brochothrix. L'oxydation pourrait alors être celle d'une réaction de réduire le pyruvate en lactate. Quant à Brochothrix depourvu de cytochione v, de formation d'énergie pour la formation d'ATP. Cet ATP pourrait provenir de phosphorylation paties à l'Ouire d'énergie pour la formation d'ATP. Cet ATP pourrait provenir de phosphorylation paties à l'Ouire d'énergie pour la formation d'ATP. Cet ATP pourrait provenir de phosphorylation paties à l'Ouire de Madrid de Maria de la companie de la c en évidence une NADH per vaydase chez Brochothrix. L'oxydation pourrait alors être celle d'une reaction tanée d'Ha o sur le pyruvate comme celle décrite chez L. delbrueckii (Doelle 1975).

Lique dans intrion plus importante en anaerobiose qu'en semi aerobiose et inexistante en aerobiose s'exfectuer compenser la disparition d'Ha o Brochothrix doit augmenter sa teneur en SOD. Il peut l'effectuer compenser la disparition d'Ha o Brochothrix doit augmenter sa teneur en SOD. Il peut l'effecte che si ce système de compétition pour Ha o existe il doit prendre place dans le cas de la conservation la quantité d'oxygène dans le cas de la conservation la quantité d'oxygène de compétition pour Ha o existe il doit prendre place dans le cas de la conservation la quantité d'oxygène de compétition pour Ha o existe il doit prendre place dans le cas de la conservation la quantité d'oxygène de compétition pour Ha o existe il doit prendre place dans le cas de la conservation la quantité d'oxygène de compétition pour Ha o existe il doit prendre place dans le cas de la conservation la doit se la conservation la doit prendre place de la conservation la doit se la conservation la doit se la conservation la doit prendre place de la conservation la doit se la conservation la doit se la conservation la doit prendre place de la conservation la doit se la conservation la doit se la conservation la doit prendre place de la conservation la doit se la conservation la doit prendre place de la conservation la doit place la de Si calsément en aerobiose, difficilement en semi aerobiose et pas du tout en anaerobiose.

Unital viande de compétition pour H₂O existe il doit prendre place dans le cas de la conservation trouve et al 1962) ne permet pas un développement optimum du lactobacille (Lauret 1981). Il doit se cett en association pour le glucose décrit par Shay et al (1984). Cette hypothèse, compétition bactérienne pour le peroxyde d'hydrogène et ce qu'elle sous tend dans les rapports entre bactéries est actuellement en cours d'étude.

Temps en jours	1	2	4	6
Lactobacillus	0,13	0,30	0,51	0,61
Brochothrix	0,35	1,25	2,20	2,30
Lactobacillus + Brochothrix	0,15	0,42	. 0,80	1,07

Tableau 1 : Quantités, en g % ml, de lactate formé dans les cultures incubées à pH 6,0 et à 25°C.

Temps en jours	1	2	. 4	6
Lactobacillus	< 1	< 1	1,0	1,6
Brochothrix	< 1	< 1	< 1	3,3
Lactobacillus + Brochothrix	< 1	1,6	10	10
Lactobacillus + manganèse	< 1	2.	30	10

Tableau 2 : Quantités, en mg pour 100 ml, de pyruvate formé dans les cultures incubées à pH 6,0 et à 25°C.

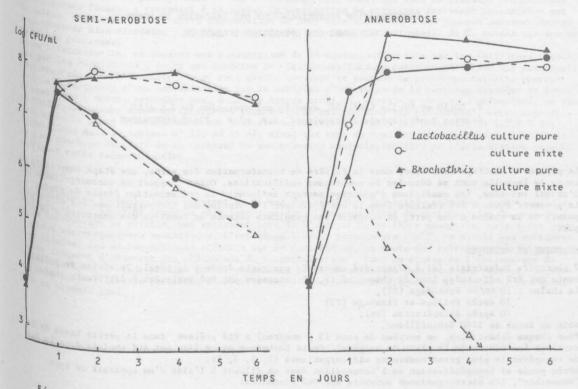
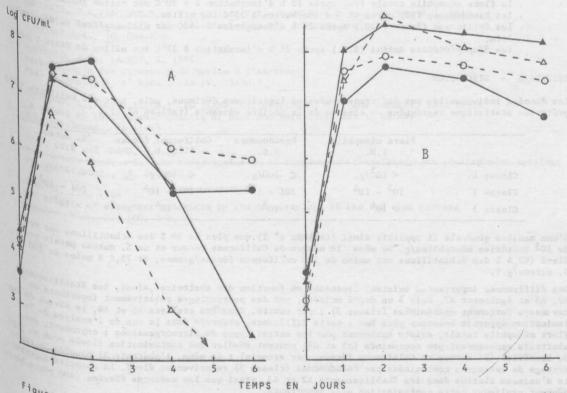


Figure 1: Evolutions de Lactobacillus et de Brochothrix en culture pure ou en mélange, en semi aérobiose ou en anaérobiose.



TEMPS EN JOURS

2 : Evolution de Lactobacillus et de Brochothrix en présence de catalase (A) ou de Mn (B) en semi aérobiose.(cf légende figure 1).

441