

## **Diapositive 2 : Bactéries lactique**

Les bactéries lactiques (LAB) constituent un groupe diversifié de microorganismes associés aux plantes, à la viande et aux produits laitiers. Les lactiques sont également importantes dans le commerce de la transformation des viandes, des boissons alcoolisées et des légumes. Elles sont utilisées dans la fabrication de produits laitiers tels que le lait acidophile, le yaourt, le babeurre et les fromages.

## **Diapositive 3 : Interactions hôte - bactériophage**

Les bactéries lactiques (LAB) comprennent différents groupes de microorganismes, tels que les *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* ainsi que des espèces ou genres qui constituent le noyau "industriel" des LAB, comme les *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc*. Le genre *lactococcus* est le LAB relié à la nourriture le mieux caractérisé. Comme les souches lactococciques peuvent se développer dans le lait et transformer le lactose en acide lactique, elles sont couramment utilisées comme cultures de départ dans les fermentations industrielles pour la production du fromage (1). Le premier effet négatif des bactériophages sur la fermentation laitière a été signalé au milieu des années 1930 (2). Indépendamment des précautions sanitaires, du roulement dans les souches de démarrage et du développement constant de nouvelles souches bactériennes résistantes aux phages, les phages restent l'une des principales sources d'échec de fermentation économiquement grave. La lyse bactérienne induite par le phage conduit à un affaiblissement voire un arrêt de la fermentation, à une diminution de la production d'acide et à une réduction de la qualité des produits laitiers, entraînant de graves pertes économiques (3).

## **Diapositive 4 : Les cauchemars d'un producteur de fromage**

Un exemple de vidéo de microscopie à travers le temps montre les effets néfastes des phages pendant le processus de fermentation. L'infection de *Lactococcus lactis* par des phages virulents peut provoquer une lyse cellulaire et une mort cellulaire dans l'heure suivant l'infection.

## **Diapositive 5 : Phages de LAB**

Les phages de lactocoques sont actuellement classés en dix groupes en fonction de leur morphologie et de leur parenté génétique. Cependant, trois principales espèces 936, P335 et C2 dominent l'industrie laitière en termes de persistance et de fréquence d'isolement. Les membres des 936 et c2 n'observent qu'un cycle lytique seulement, tandis que les membres P335 peuvent se propager lytiquement ou intégrer leur génome dans celui de l'hôte et se reproduire en tandem avec le chromosome de l'hôte, on les appelle des phages lysogéniques ou tempérés (4).

## **Diapositive 6 : Mécanismes de défense des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques ainsi que d'autres bactéries infectées par des phages ont développé des systèmes de défense contre les bactériophages, ce qui leur permet de survivre dans un environnement plein de leurs prédateurs (phages). Ces systèmes anti-phages ont été organisés en groupes selon la manière dont ils fonctionnent. Certains de ces systèmes comprennent :

- (i) L'inhibition de la fixation / de l'adsorption des phages
- (ii) Le blocage de l'injection de l'ADN du phage
- (iii) Les systèmes de modification et de restriction

(iv) Les systèmes d'avortement de l'infection par le phage

### **Diapositive 7 : Bactériophages dans l'industrie laitière**

Il est important d'identifier les sources potentielles de contamination par les phages et de limiter leur entrée dans le processus de fermentation. Les phages peuvent provenir de différentes sources :

#### **Lait cru**

Le lait brut est la source la plus probable de phages virulents naturels à des titres bas (entre  $10^1$ - $10^3$  PFU ml<sup>-1</sup>) et constituent un apport continu de bactériophages dans l'industrie laitière (5, 6). Les concentrations en phages dans le lait cru dépendent également des conditions de collecte, de manipulation et de stockage du lait par le fournisseur (ferme), lors du transport vers l'industrie et, enfin, lors de la manipulation du lait dans l'industrie elle-même. Il est également important de se rappeler que la biodiversité des phages est augmentée en combinant le lait collecté au sein de différentes exploitations et ces chiffres peuvent être encore plus élevés dans le lait transformé.

#### **Concentrés de protéines de lactosérum**

Les protéines de lactosérum sont utilisées pour standardiser le lait avant le processus de fermentation ou pour améliorer le goût et la texture ainsi que la valeur nutritive du produit fini. Les concentrés de protéines de lactosérum peuvent être des sources de phages résistant à des hautes températures et peuvent influencer la qualité du produit final (7, 8).

#### **Cultures de démarrage (« starters »)**

La culture de démarrage peut être source de phages lorsque les souches contiennent des phages tempérés. Les phages tempérés sont incorporés au chromosome bactérien et leur génome se réplique en même temps que le génome bactérien. Les prophages sont portés par de nombreuses souches LAB (9, 10) et peuvent passer de la forme lysogène à lytique suite à certaines conditions de fabrication telles que la chaleur, les sels, l'acidité, les bactériocines ou les UV (11, 12). La sous-culture en série des phages tempérés dans le lait peut entraîner leur remplacement par un mutant virulent. L'induction d'un prophage à partir de différentes souches lysogéniques de culture de démarrage peut influencer la fermentation. La principale source de souches lysogéniques est représentée par les cultures non définies et ce pour deux raisons principales : i) on ne connaît pas la composition précise de la souche de ces cultures de démarrage; ii) l'élimination des souches lysogéniques à partir d'une culture non définie est très difficile.

#### **Équipement / air**

Les phages sont généralement présents sur les surfaces de travail et nécessitent généralement la présence de leurs hôtes bactériens. Suite à ceci, ils se retrouvent généralement dans des endroits où les conditions de développement des LAB sont favorables telles que les valves, les crevasses et les "impasses" (endroits difficiles de nettoyage et de désinfection) des chaînes de production. Séquentiellement, la manutention du lait cru, le lait au fromage traité dans les cuves ouvertes et la manipulation du lactosérum peuvent conduire à la dispersion des phages dans l'air. Les phages virulents peuvent circuler dans l'air loin de la source d'aérosol en raison de leur capacité à se lier à de petites particules (<2,1  $\mu$ m) (13).

#### **Stratégie de lutte contre le phage**

##### **Nettoyage et désinfection**

Les opérations classiques de nettoyage et de désinfection sont une partie essentielle du traitement du lait. Les procédures de nettoyage en place (CIP ou NEP) sont généralement appliquées dans les chaînes de traitement du lait (14). Le processus de nettoyage peut éliminer plus de 90 % des microorganismes associés à la surface, mais ne peut pas les tuer tous. La présence de LAB parmi les microorganismes résiduels augmente le risque de contamination par les phages.

### **Conception d'un système de rotation des cultures de démarrage basé sur le contrôle de la contamination par les phages**

Les cultures de démarrage sont un facteur clé influençant la diversité de la population de phages dans une industrie laitière. L'application de cultures indéfinies multi-espèces et multi-souches représentait, par le passé, la stratégie principale pour surmonter les problèmes de production liés aux phages dans de nombreuses usines. La stratégie de rotation des cultures de plusieurs souches définies exige la sélection de souches résistantes à une large gamme de phages, ceci pourrait remplacer les souches infectées. En outre, la rotation continue de plusieurs souches au cours du processus de fermentation a un effet sur la co-évolution des phages et il a été montré que cela augmente la diversité des phages et leur abondance dans l'environnement laitier (15). Cela nécessite également une sélection constante de souches de démarrage avec des propriétés fermentatives spécifiques. Une alternative est l'utilisation d'une souche unique, hautement spécialisée et résistante au phage et de ses variants porteurs des plasmides de résistance aux phages, obtenus à partir de souches naturellement résistantes.

### **Organisation de production**

Un élément important pour réduire la dispersion des phages dans l'industrie laitière est l'organisation de la production. Le contrôle du risque de contamination phagique dans les usines laitières repose sur le développement et la mise en œuvre de différentes procédures telles que l'aseptie, les cuves fermées, les milieux inhibiteurs de phage et le traitement thermique des milieux de démarrage en vrac.

### **Conclusions**

Les phages représentent une menace constante de graves pertes économiques dans l'industrie laitière. En conséquence, les microbiologistes laitiers ont essayé pendant près de 80 ans d'éliminer ou, du moins, de mieux maîtriser, les bactériophages qui interfèrent avec la fabrication des produits laitiers fermentés. Les phages se propagent rapidement dans l'environnement laitier et sont difficiles à éliminer. Il est donc important de comprendre comment l'hôte et les phages coexistent afin de mieux comprendre cette relation complexe dans l'espoir de trouver des solutions durables au problème rencontré actuellement dans l'industrie laitière.

### **Références**

1. Klaenhammer TR, Barrangou R, Buck BL, Azcarate-Peril MA, Altermann E. Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiol Rev.* 2005;29(3) 393-409.
2. Whitehead HR, Cox GA. The occurrence of bacteriophage in lactic streptococci. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* 1935;16 319–320.

3. Lawrence R C. Action of bacteriophages on lactic acid bacteria: consequences and protection. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* 1978;13 129-136.
4. Mahony, J., & van Sinderen, D. (2015). Novel strategies to prevent or exploit phages in fermentations, insights from phage–host interactions. *Current opinion in biotechnology*, 32, 8-13.
5. Kleppen HP, Bang T, Nes IF, Holo H. Bacteriophages in milk fermentations: diversity fluctuations of normal and failed fermentations. *International Dairy Journal* 2011;21(9) 592-600.
6. Madera C, Monjardin C, Suarez JE. Milk contamination and resistance to processing conditions determine the fate of *Lactococcus lactis* bacteriophages in dairies. *Applied and Environmental Microbiology* 2004;70(12) 7365-7371.
7. Atamer Z, Ali Y, Neve H, Heller KJ, Hinrichs J. Thermal resistance of bacteriophages attacking flavor-producing dairy *Leuconostoc* starter cultures. *International Dairy Journal*, 2011;21(5) 327-334.
8. Chopin MC. Resistance of 17 mesophilic lactic *Streptococcus* bacteriophages to pasteurization and spray-drying. *Journal of Dairy Research* 1980;47(1) 131-139.
9. Canchaya C, Proux C, Fournous G, Bruttin A, Brüssow H. Prophage genomics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2003;67(2) 238-276.
10. Mercanti DJ, Carminati D, Reinheimer JA, Quiberoni A. Widely distributed lysogeny in probiotic lactobacilli represents a potentially high risk for the fermentative dairy industry. *International Journal of Food Microbiology* 2011; 144(3) 503-510.
11. Lunde M, Aastveit AH, Blatny JM, Nes IF. Effects of diverse environmental conditions on  $\phi$ LC3 prophage stability in *Lactococcus lactis*. *Applied Environmental Microbiology* 2005;71(2) 721-727.
12. Madera C, Garcia P, Rodriguez A, Suarez JE, Martinez B. Prophage induction in *Lactococcus lactis* by the bacteriocin Lactococcin 972. *International Journal of Food Microbiology* 2009;129(1) 99-102.
13. Verreault D, Gendron L, Rousseau GM, Veillette M, Masse D, Lindsley WG, Moineau S, Duchaine C. Detection of airborne lactococcal bacteriophages in cheese manufacturing plants. *Applied and Environmental Microbiology* 2011;77(2) 491497.
14. Simoes M, Simoes LC, Vieira MJ. A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT-Food Science and Technology* 2010;43(4) 573-583.
15. Heap HA, Lawrence RC. The contribution of starter strains to the level of phage infection in a commercial cheese factor. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* 1977;12(4) 213.

