

Thèse Unique en Sciences Biologiques Appliquées spécialité : Biochimie/Microbiologie,
soutenue le 14 juin 2003, à l'Université de Ouagadougou – Burkina Faso

**Titre : CARACTÉRISATION GÉNOTYPIQUE, BIOCHIMIQUE ET ACTIVITÉ
ANTIMICROBIENNE DE BACILLUS SP. EN VUE DE LA MISE AU POINT DE
STARTERS POUR LA PRODUCTION CONTRÔLÉE DU SOUMBALA**

Par : Dr Irène OUOBA

Résumé

Les bactéries du genre *Bacillus* sont les principaux microorganismes responsables de la fermentation des graines de néré (*Parkia biglobosa*) dont le produit est connu sous le nom de *soumbala* au Burkina Faso. Dans le but de mettre au point des starters pour une production contrôlée du *soumbala*, huit souches de *B. subtilis* et deux souches de *B. pumilus* isolées du *soumbala* provenant de différentes régions du Burkina Faso ont été individuellement caractérisées par leur phénotype, leur génotype, leur activité protéolytique, lipolytique, saccharolytique et antibactérienne. Une identification plus poussée, des souches de *Bacillus* a été réalisée par l'utilisation de méthodes d'analyse de biologie moléculaire tels que ITS-PCR, ITS-PCR-RFLP, PFGE et le séquençage de la région 968-1401 du 16S rADN.

L'activité protéolytique a été étudiée par des tests de diffusion dans de l'agar de caséine et de protéines de graines de néré. Le profil protéique des graines de néré avant et après fermentation a été déterminé par SDS-PAGE. La quantité et le profil d'acides aminés libres (AAL) ont été déterminés par une chromatographie d'échange de cation. Des tests de diffusion dans l'agar de tributyrine et d'huile de graines de néré ont été réalisés pour l'étude de l'activité lipolytique. La quantité et le profil d'acides gras libres (AGL) au cours du temps ont été déterminés respectivement par une méthode de titration et une chromatographie en phase gazeuse. Quant à la dégradation des sucres tels que l'arabinogalactane, le stachyose, le raffinose et le saccharose, elle a été mise en évidence par mesure du pH et par HPAEC-PAD (une chromatographie de haute performance d'échange d'anions). Enfin, l'activité antibactérienne a été déterminée par des tests d'inhibition dans de l'agar nutritif et des tests d'inactivation dans un bouillon nutritif.

Le ITS-PCR et le ITS-PCR-RFLP ont permis un groupage des *Bacillus* spp. Selon l'espèce et le PFGE la détermination des sous espèces. Le séquençage du 16S rADN a permis l'identification des différentes espèces de *Bacillus*. Toutes les souches de *Bacillus* ont dégradé les protéines des graines de néré donnant cependant différents profils protéiques et d'AAL. Une augmentation de la quantité d'AAL et du pH a été observée au cours de la fermentation

principalement en 24 et 48h. Les souches de *B. subtilis* B9 et B15 ont donné les meilleures quantités d'AAL essentiels, en particulier la lysine. La souche de *B. subtilis* B7 et les deux souches de *B. pumilus* B6 et B10 ont montré une haute activité lipolytique surtout en 0 et 24 h. L'acide linoléique a été l'AGL essentiel le plus important avant et après la dégradation lipidique. Quant à la dégradation de l'arabinogalactane, du stachyose et du raffinose, elle a été possible avec principalement les souches de *B. subtilis* B7, B9, et B15. Toutes les souches de *Bacillus* ont inhibé la croissance d'indicateurs de bactéries pathogènes telles que *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* et *Escherichia coli*. Cependant, principalement les souches de *B. subtilis* B7 et B15 ont été capables d'éliminer complètement les bactéries pathogènes.

Mots clés : *Bacillus*, fermentation, *Parkia biglobosa*, *soumbala*, starters.