

FLORE LACTIQUE ET ENVIRONNEMENT CARNE

Les produits carnés (viande fraîche, produits de salaison, saucissons secs) sont des milieux de prédilection pour différentes espèces bactériennes. Parmi celles-ci, certaines bactéries lactiques jouent un rôle important dans la conservation des produits carnés en inhibant le développement d'espèces pathogènes ou d'altération. Les premières sont responsables d'intoxications alimentaires et les secondes peuvent occasionner des pertes importantes pour l'économie de la filière viande. Les bactéries lactiques permettent aussi la fabrication des saucissons secs.

Les enjeux socio-économiques

- Améliorer la qualité microbiologique des produits carnés.
- Améliorer la conservation de la viande fraîche.

Objectifs scientifiques

- Comprendre l'adaptation, le développement et la survie des bactéries dans un milieu carné (viande fraîche ou produits de salaison), en comparant :
 - les génomes d'espèces positives (bactéries lactiques et *Lactobacillus sakei*, espèce systématiquement présente sur la viande), d'espèces pathogènes (*Listeria monocytogenes* ou *Escherichia coli* O157-H7, *Staphylococcus aureus*, salmonella, *Clostridium perfringens*), ou d'altération (*Pseudomonas*, entérobactéries) ;
 - les propriétés d'espèces présentes sur la viande (capacités à se développer, à survivre, activités métaboliques ou d'adaptation).
- Découvrir les fonctions de *L. sakei* qui interviennent dans sa croissance sur la viande et dans sa lutte contre les bactéries indésirables.
- Connaître les fonctions de *L. sakei* qui sont importantes pour la fabrication des saucissons.
- Maîtriser le développement des bactéries sur les produits carnés.



1 B. Nicolas

Un potentiel humain, associant des compétences en microbiologie, génomique, protéomique et analyse bio-informatique

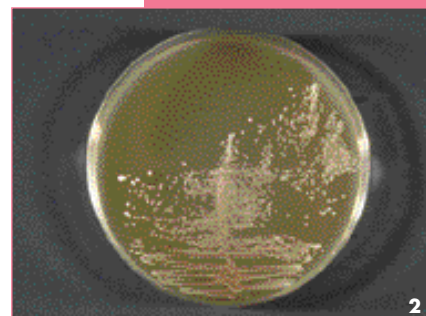
- Personnel INRA : 7 chercheurs et 3 techniciens.
- Encadrement d'étudiants et de Post-Doctorants.

Partenariat scientifique

- Niveau national : INRA de Theix, Grignon et Rennes ; l'université de Caen.
- Niveau européen : Allemagne, Espagne, Norvège.
- Niveau international : Argentine, Mexique, Nouvelle-Zélande, Tunisie.

Techniques ou matériels dédiés

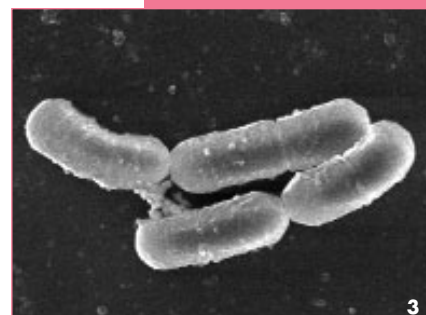
- Un atelier d'électrophorèse bidimensionnel (AE2D).
- Un serveur pour l'utilisation de logiciels d'analyse de génomes et l'utilisation d'outils pour l'annotation et la comparaison des génomes (notamment ceux développés par l'unité « Mathématiques, Informatique et Génome » du centre INRA de Jouy-en-Josas).
- Des chaînes d'HPLC pour la séparation de molécules organiques.



2 B. Nicolas

Résultats marquants des deux dernières années

- La cartographie physique et génétique d'une souche modèle de *L. sakei*.
- Le séquençage complet du génome de la souche modèle (près de 1 885 000 nucléotides pour environ 1 900 gènes). La détermination des groupes de gènes (îlots de style de vie) spécifiques de l'adaptation de cette espèce à l'environnement carné.
- La mise en évidence d'une biodiversité particulièrement grande chez cette espèce.
- L'identification des protéomes et la mise en relation avec les données issues du génome.



3 A. Marceau

Photos

1. Environnements privilégiés de *Lactobacillus sakei*. *L. sakei* constitue la flore dominante de la viande fraîche conservée sous vide. Cette bactérie est aussi utilisée pour la fabrication des saucissons secs ; elle est parfois présente sur d'autres produits comme le saumon fumé. **2. Colonies de *L. sakei*** après croissance sur un milieu chimiquement défini, mis au point au laboratoire. **3. *L. sakei* vue en microscopie électronique à balayage.** La longueur d'une bactérie est d'environ 1 micron. **4. Comparaison de génomes bactériens.** Le génome de *L. sakei* comprend environ 1 900 gènes. Il est ici comparé à celui de 7 autres bactéries (la comparaison entre 2 génomes est matérialisée par un cercle de hachures). Les gènes conservés fortement, moyennement ou faiblement sont représentés respectivement en rouge, vert et bleu. **5. Protéome de *L. sakei*.** Les protéines (taches orangées) sont séparées par électrophorèse bidimensionnelle. Les protéines fléchées sont les principales enzymes intervenant dans le métabolisme des sucres. **6. Expression différentielle des protéines.** La protéine encerclée de rouge est surexprimée dans une des 2 conditions étudiées. Son analyse permet d'identifier le gène correspondant. **7. Outils génétiques.** Ce plasmide, construit au laboratoire, est utilisé pour introduire des mutations dans le chromosome de *L. sakei*. Les fonctions de plusieurs gènes ont ainsi pu être identifiées.

LACTIC ACID BACTERIA AND MEAT ENVIRONMENT

Meat products (raw meat, dry-cured, dry sausages) are rich media for the development of various bacterial species. Amongst these, some lactic acid bacteria play an important role in meat product storage by inhibiting the development of pathogenic or spoilage species, responsible for food poisoning and important economic losses in the meat industry, respectively. Lactic acid bacteria are also used for producing dry sausages.

Challenges

- To improve the microbial quality of meat products.
- To improve raw meat storage.

Scientific objectives

- To understand adaptation, development and survival of bacteria in meat environments (raw meat or dry-cured products), by comparing:
 - the genome of beneficial organisms (lactic acid bacteria and *Lactobacillus sakei*, a bacterium belonging to meat microflora), pathogenic species (*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157-H7, *Staphylococcus aureus*, salmonella, *Clostridium perfringens*), or spoilage bacteria (*Pseudomonas*, enterobacteria)
 - the properties of species occurring naturally on meat (ability to develop, to survive, metabolic or adaptive properties).
- To discover the functions of *L. sakei* which are involved in its ability to grow on meat and in the growth inhibition of undesired species.
- To know the functions of *L. sakei* which are important for sausage manufacturing.
- To control bacterial development on meat products.

Personnel

- 7 scientists, 3 technical staff.
- Undergraduate, graduate and PhD students, postdocs.

Technical facilities

- A bidimensional electrophoresis lab.
- A server with software for genome annotation and comparison analysis (especially those developed by the « Mathematics, Informatics and Genome » unit at INRA Jouy-en-Josas).
- HPLC equipment for organic molecule separation and analysis.

Results

- Physical and genetic map of the *L. sakei* model strain chromosome.
- Whole genome sequencing of the model strain (1 885 651 nucleotides for approximately 1 900 genes). Detection of gene clusters (lifestyle islands) specific for adaptation of *L. sakei* to meat environment.
- Evidence of great biodiversity in this species.
- Identification of proteomes and link with the genome data base.

International partnerships

- Europe: Germany, Norway, Spain.
- Other countries: Argentina, Mexico, New Zealand, Tunisia.

Photos

1. Food products where *L. sakei* is found. *L. sakei* is the predominant flora in raw meat and vacuum-packaged meat and is also found in smoked salmon. In western Europe, *L. sakei* is used as a starter for producing dry sausages. **2. Clones of *L. sakei*** growing on a chemically-defined medium designed by the laboratory. **3. Electronic microscopy image of *L. sakei*.** The average size of one bacterium is about one micron. **4. Genomic comparison.** *L. sakei* genome comprises about 1900 genes which are compared to 7 other bacteria for the search of orthologs. The genes which are highly, moderately, or weakly conserved are in red, green, and blue respectively. **5. Proteome of *L. sakei*.** The proteins (orange spots) are separated by bidimensional electrophoresis. The proteins indicated by blue arrows are the main enzymes of the sugar metabolism. **6. Differential expression of the proteins.** The red circled protein is over-expressed under one of the two studied conditions. Its analysis makes it possible to identify the corresponding gene. **7. Genetic tools.** This plasmid, constructed by the laboratory, is used to introduce mutations in the *L. sakei* chromosome. Thus, the function of several genes could be identified.

