



Impact de l'âge et du microbiote sur l'expression intestinale des défensines chez les oiseaux

Anne-Christine Lalmanach, Djihad Bencherit, Hélène Marty, Angéline Trotereau, Nathalie Chanteloup, Annie Brée, Catherine Schouler

► To cite this version:

Anne-Christine Lalmanach, Djihad Bencherit, Hélène Marty, Angéline Trotereau, Nathalie Chanteloup, et al.. Impact de l'âge et du microbiote sur l'expression intestinale des défensines chez les oiseaux. 6. Journées des microbiologistes de l'INRA 2012, Nov 2012, L'Isle-sur-la-Sorgue, France. 206 p., 2012. hal-02748160

HAL Id: hal-02748160

<https://hal.inrae.fr/hal-02748160>

Submitted on 3 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

JOURNÉES
des **MICROBIOLOGISTES**
de l'**INRA 2012**



L'Isle-sur-la-Sorgue
13 - 15 novembre 2012

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

JOURNÉES des MICROBIOLOGISTES de l'INRA 2012

organisées par **le département Microbiologie et Chaîne Alimentaire – MICA**

en collaboration avec les départements :

AlimH – Alimentation humaine

CEPIA - Caractérisation et élaboration des produits issus de l'agriculture

EA - Environnement et agronomie

EFPA - Écologie des forêts, prairies et milieux aquatiques

MIA - Mathématiques et informatique appliquées

PHASE - Physiologie animale et systèmes d'élevage

SA - Santé animale

SPE - Santé des plantes et environnement

L'Isle-sur-la-Sorgue 13 – 15 novembre 2012

Sommaire

Sommaire.....	3
Bienvenue.....	5
Comité d'organisation et comité scientifique.....	6
Programme	7
<u>Résumés Session 1 : Ecosystèmes</u>	11
Sommaire Session 1	16
Conférencier invité	17
Communications orales N° O1 à O6.....	13
Communication supplémentaire à propos des collections microbiennes.....	25
Posters N° P1 à P19	26
<u>Résumés Session 2 : Biologie des systèmes & biologie synthétique</u>	47
Sommaire Session 2	49
Conférencier invité	51
Communications orales N° O7 à O12.....	52
Posters N° P20 à P31	59
<u>Résumés Session 3 : Interactions microorganismes-hôtes</u>	73
Sommaire Session 3	75
Conférencier invité	80
Communications orales N° O13 à O18.....	81
Posters N° P32 à P78	88
<u>Résumés Session 4 : Blanche</u>	137
Sommaire Session 4	139
Conférencier invité	143
Communications orales N° O19 à O24.....	144
Posters N° P79 à P117	151
<u>Unités et participants</u>	193
Liste des unités représentées	195
Liste des participants avec indication des N° des résumés	197
Plan du site avec localisation des sessions posters.....	207

Bienvenue à L'Isle-sur-la-Sorgue !



Bienvenue à tous aux 6^{èmes} Journées des microbiologistes de l'Inra. C'est un plaisir de vous recevoir pour cette nouvelle session qui accueille cette année des représentants :

- de **48 unités** (il y en avait 37 lors de la session précédente il y a 2 ans au Futuroscope de Poitiers),
- et de **10 départements** (8 il y a 2 ans).

Il faut noter également que 42% des participants ne font pas partie du Département Microbiologie et chaîne alimentaire (contre 30% il y a 2 ans).

Enfin, cette année, malgré le nombre maximal de 200 participants que nous pouvions accueillir, la proximité des unités du centre d'Avignon nous a permis d'inscrire une trentaine de personnes supplémentaires qu'il n'est pas besoin d'héberger, ce qui a permis de limiter le nombre de personnes restant sur la liste d'attente. Tout cela pour dire à quel point ces Journées sont attractives et correspondent à un réel besoin de rencontre et d'échange entre microbiologistes de l'Inra.

Toutefois, si ce besoin d'échange en interne est indéniable, le comité scientifique et moi-même avons tenu à maintenir une ouverture vers l'extérieur et je remercie vivement nos invités qui ont accepté de venir contribuer à ces journées :

- Télésphore Sime-Ngando (CNRS – Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand), pour introduire la session Ecosystèmes
- Hidde de Jong (INRIA Grenoble), pour introduire la session Biologie des systèmes et biologie synthétique
- Blaise Corthésy (CHUV Lausanne), pour introduire la session Interactions microorganismes-hôtes

Quant à l'introduction de la session blanche, pour laquelle il était plus difficile de cibler un spécialiste externe, nous avons choisi un de nos collègues de l'Inra de Bordeaux : Thierry Candresse, du Département SPE, Santé des Plantes et Environnement.

Pour cette édition 2012, nous avons fait à nouveau le choix de ne proposer que des séances plénières de manière à ce que « tout le monde entende tout le monde ». La transversalité et la transdisciplinarité étant des aspects essentiels de la recherche aujourd'hui.

Nous avons également souhaité accueillir un maximum de jeunes scientifiques : c'est chose faite, puisqu'ils représentent 42% des participants (doctorants : 19% ; post-docs : 9% ; titulaires <10 ans post-thèse : 14%)

Le comité scientifique a été constitué de membres proposés par les chefs de Départements impliqués dans ces Journées de manière à représenter au mieux les différentes thématiques abordées à l'Inra. Je les remercie chaleureusement pour leur implication.

Merci également aux organisateurs, sans qui nous ne serions pas là aujourd'hui.

J'espère que les échanges seront nombreux et fructueux pour tous, et je vous souhaite de passer d'excellentes Journées.

Emmanuelle Maguin, Chef du département MICA

Comité d'organisation et comité scientifique

Comité d'organisation : jmi2012@jouy.inra.fr

Danielle Canceill (coordinatrice) - Sandrine Ayuso - Monique Cantonnet - Cristelle Celton - François Marras - Christine Riou	Département Mica , UAR1194 Centre de recherche Inra Domaine de Vilvert 78352 Jouy-en-Josas Cedex mica@inra.fr
---	---

Comité scientifique :

Danielle Canceill (coordinatrice)

Prénom	Nom	Dpt	Unité	Équipe	Centre
Xavier	BAILLY	SA	EPI-A UR346	Diversité des hôtes et des agents pathogènes	Theix
Claude	BRUAND	SPE	LIPM UMR441	Réponses aux stress et signaux de l'environnement chez les rhizobia	Toulouse
Thierry	CANDRESSE	SPE	BFP UMR1332	Virologie végétale	Bordeaux
Christine	CITTI	SA	IHAP UMR1225	Pathogenèse des infections à mycoplasmes	Toulouse
Muriel	COCAIGN-BOUSQUET	Mica	LISBP UMR792	Génie du métabolisme des procaryotes	Toulouse
Mickaël	DESVAUX	Mica	MIC UR454	Adaptation des Bactéries aux environnements Digestif et Alimentaire	Theix
Benoit	DOUBLET	Mica	ISP UMR1282	Plasticité Génomique, Biodiversité, Antibiorésistance	Tours
Eric	DUCHAUD	SA	VIM UR892	Infection et immunité des poissons	Jouy
Sabine	FILLINGER	SPE	BIOGER-CPP UR1290	Antifongiques, Mode d'action et Résistances	Grignon
Rozenn	GARDAN	Mica	Micalis UMR1319	Peptides et Communication Bactérienne	Jouy
Alain	GIVAUDAN	SPE	DGIMI UMR1333	Génomique fonctionnelle & facteurs de virulence bactériens	Montpellier
Eric	GUÉDON	Mica	Micalis UMR1319	Bactéries Alimentaires et Commensales	Jouy
Françoise	IRLINGER	Mica	GMPA UMR782	Écosystèmes Fromagers	Grignon
Matthieu	JULES	Mica	Micalis UMR1319	Régulation Génétique et Biofilms chez les Bacillacées	Grignon
Xavier	LE ROUX	EFPA	EM USC1193	Groupes fonctionnels microbiens et cycle de l'azote	Villeurbanne
Patricia	LEPAGE	AlimH	Micalis UMR1319	Fonctionnalité de l'Écosystème Intestinal	Jouy
Pierre-Alain	MARON	EA	Agroécologie UMR 1347	Plateforme GenoSol	Dijon
Cécile	NEUVEGLISE	Mica	Micalis UMR1319	Biologie intégrative du métabolisme lipidique microbien	Grignon

Programme

Les posters seront affichés et accessibles pendant toute la durée du colloque. L'auteur-présentateur doit être présent devant son poster à l'une des deux séances programmées, selon le numéro attribué au poster :

- **numéros impairs à la 1^{ère} séance**
- **numéros pairs à la 2^{ème} séance.**

J1 - mardi 13 novembre

Session	Heure	Titre	Durée (mn)
	11:00 - 14:00	Accueil - Enregistrement	180
	11:45 - 13:45	Déjeuner-buffet	120
	14:00 - 14:15	Introduction – Emmanuelle Maguin , chef du Département MICA	15
Session 1	14:15	Les microorganismes, les virus et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques	45
Écosystèmes		Conférencier invité : Télesphore Sime-Ngando	
14:15 - 17:30		CNRS – Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand Laboratoire Microorganismes : Génome & Environnement Équipe Virus et Métabolismes microbiens en milieu aquatique	
Modérateur : Eric GUÉDON	15:00	O1 - Impact des changements globaux et locaux sur les communautés de producteurs primaires microbiens au sein des écosystèmes aquatiques continentaux Solène Larroudé (UMR1122 BIOEMCO, Paris)	20
	15:20	O2 - How does community structure affect performance of ecosystem function? Kim Milferstedt (UR50 LBE, Narbonne)	20
	15:40	Pause-café	30
	16:10	O3 - Effet de l'essence forestière sur la diversité des transcrits fongiques codant des protéines impliquées dans la dégradation et l'absorption des polysaccharides végétaux Patricia Luis (USC1193 EM, Villeurbanne)	20
	16:30	O4 - Une nouvelle vision de l'histoire de vie des agents phytopathogènes Odile Berge (UR0407 PV, Avignon)	20
	16:50	O5 - Développement d'une approche en métagénomique pour discriminer les espèces proches et identifier les espèces peu abondantes dans un écosystème complexe Anne-Laure Abraham (UMR1319 MICALIS, Jouy-en-Josas)	20
	17:10	O6 - Étude de l'écosystème fromager par une approche méta-transcriptomique Cécile Straub (UMR782 GMPA, Grignon)	20
	17:30	Fin session 1	195

Hors session	17:30 - 17:45	Information sur les ressources microbiennes : « Think out of the box regarding microbial resources value » Sylvie Lortal (CIRM-BIA, UMR1253 STLO, Rennes)	15
	17:45 - 19:00	Temps libre (Installation des posters, installation dans les chambres, enregistrement des retardataires,...)	90
	19:00 - 20:30	Diner	90
	20:30 - 22:30	1ère séance posters (N° impairs)	120

J2 - mercredi 14 novembre

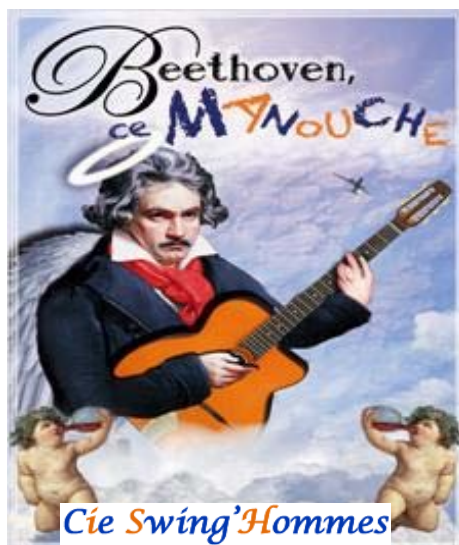
Session 2	08:30	Shared control of gene expression in bacteria by transcription factors and global physiological state Conférencier invité : Hidde de Jong INRIA Grenoble Équipe IBIS-Bioinformatics	45
Biologie des systèmes & biologie synthétique	09:15	O7 - Analyse quantitative des régulations de la traduction chez <i>Lactococcus lactis</i> par une approche de biologie des systèmes Laurence Girbal (UMR792 LISBP, Toulouse)	20
8:30 - 11:30	09:35	O8 - Dynamique de la transition glucose/acétate chez la bactérie <i>Escherichia coli</i> Brice Enjalbert (UMR792 LISBP, Toulouse)	20
Modérateur : Muriel COCAIGN-BOUSQUET	09:55	O9 - Growth-rate-dependant protein production in bacteria Olivier Borkowski (UMR1319 MICALIS, Grignon)	20
	10:15	Pause-café	30
	10:45	O10 - Genome-scale metabolic and regulatory network reconstruction of <i>Ralstonia solanacearum</i> Rémi Peyraud (UMR0441 LIPM, Castanet-Tolosan)	20
	11:05	O11 - Constraint-based modeling of yeast fermentative metabolism Thibault Nidelet (UMR1083 SPO, Montpellier)	20
	11:25	O12 - Identification and characterization of genes controlling genome stability in the human fungal pathogen <i>Candida albicans</i> Mélanie Legrand (USC2019 BPF, Paris)	20
	11:45	Fin session 2	195
	11:45 - 13:45	Déjeuner	120
	13:45 - 15:45	2ème séance posters (N° pairs)	120

Session 3	15:45	IgA de sécrétion dans le contrôle de l'homéostasie intestinale	45
Interactions microorganismes - hôtes		Conférencier invité : Blaise Corthésy CHUV Lausanne, Division Immunologie et Allergie Team Mucosal immunity	
15:30 - 18:30	16:30	O13 - Diversité des réponses immunitaires de la glande mammaire lors de mammites induites par différentes souches d' <i>Escherichia coli</i> Perrine Roussel (UMR1282 ISP, Nouzilly)	20
Modérateur : Xavier BAILLY	16:50	O14 - Anti-inflammatory effects of <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> in a chemically-induced colitis model of conventional and gnotobiotic mice Sylvie Miquel (UMR1319 MICALIS, Jouy-en-Josas)	20
	17:10	<i>Pause-café</i>	30
	17:40	O15 - Le microbiote intestinal peut-il intervenir dans la programmation de la physiologie de l'hôte par la nutrition précoce ? Catherine Michel (UMR1280 PhAN, Nantes)	20
	18:00	O16 - Multiplicité des mécanismes d'entrée de <i>Salmonella</i> Agnès Wiedemann (UMR1282 ISP, Nouzilly)	20
	18:20	O17 - Fungal-bacterial interactions and tree nutrition: deciphering the mechanisms of the mycorrhiza helper effect Aurélien Deveau (UMR1136 IAM, Nancy)	20
	18:40	O18 - Rôle de systèmes « Toxine-Antitoxine » de <i>Sinorhizobium meliloti</i> dans l'interaction symbiotique avec la luzerne Justine Lipuma (UMR1355 ISA, Sophia Antipolis)	20
	19:00	Fin session 3	195

19:00 -19:30 *Apéritif* 90

19:30 -21:30 *Dîner de gala* 120

21:30 - 23:00 Soirée festive : Beethoven ce manouche. Spectacle original alliant théâtre et musique (entre classique et jazz manouche). 90



L'éclectisme, la qualité musicale et l'humour pourraient bien nous laisser repartir avec quelques morceaux en tête !

Créée en 2009 pour la 58^{ème} édition du Festival d'Avignon et réactualisée pour le Festival d'Avignon Off 2012, cette comédie théâtrale et musicale, réunit trois musiciens-comédiens, parmi lesquels figure un de nos collègues du centre INRA d'Avignon.

- De : Jacques Mestre et Hugues Voreux
- Mise en scène : Hugues Voreux
- Lumières – Son : Guillaume Niemetzky
- Équipe artistique
 - o Mathieu CASSAGNE, contrebasse
 - o Pierre BERNON, guitare
 - o Jérémy BOURGES, piano

Pour en savoir plus : www.beethovencemanouche.com

J3 - jeudi 15 novembre

Session 4	08:30	Progrès et contraintes pour le développement de la métagénomique phytovirale	30
"Blanche"		Conférencier invité : Thierry Candresse	
		Inra Bordeaux, Biologie du fruit et pathologie	
		Équipe Virologie végétale	
8:30 - 11:30	09:00	O19 - Analyse phosphoprotéomique des voies de réponse au fludioxonil des champignons filamenteux <i>Alternaria brassicicola</i> et <i>Botrytis cinerea</i> Jérôme Dumur (UMR1345 IRHS, Angers)	20
Modérateur : Cécile NEUVEGLISE	09:20	O20 - Prophage-crosstalk and prophage-associated cytotoxicity in <i>Enterococcus faecalis</i> v583 Renata Cruz de Matos (UMR1319 MICALIS, Jouy-en-Josas)	20
	09:40	O21 - Genomics and physiology to investigate the lipid metabolism of 9 oleaginous yeasts Stéphanie Michely (UMR1319 MICALIS, Grignon)	20
	10:00	<i>Pause-café</i>	30
	10:30	O22 - La recombinaison homologue atypique des bactériophages Geoffrey Hutinet (UMR1319 MICALIS, Jouy-en-Josas)	20
	10:50	O23 - Dynamique de mise en œuvre des hémicellulases de <i>Thermobacillus xylanilyticus</i> pour le fractionnement des parois végétales Pierre-Vincent Revol (UMR0614 FARE, Reims)	20
	11:10	O24 - The group B antigen of <i>Streptococcus agalactiae</i> : a peptidoglycan-anchored polysaccharide involved in cell wall biogenesis Michel-Yves Mistou (UMR1319 MICALIS, Jouy-en-Josas)	20
	11:30	Fin session 4	180
	11:30 - 12:30	Remise des « prix Doctorants » pour les meilleurs posters et communication orale. Conclusion	60
	12:30 - 14:00	<i>Déjeuner</i>	120

Session 1 - Écosystèmes

Sommaire Session 1 – Écosystèmes

Conférencier invité – Session 1.....	13
Les microorganismes, les virus et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques.....	16
Télesphore Sime-Ngando	16
Communications orales – Session 1	17
O1 - Impact des changements globaux et locaux sur les communautés de producteurs primaires microbiens au sein des écosystèmes aquatiques continentaux	18
Solène Larroudé & Jean-François Humbert	18
O2 - How does community structure affect performance of ecosystem function?.....	19
Kim Milferstedt, Jérôme Hamelin et Jean-Jacques Godon	19
O3 - Effet de l'essence forestière sur la diversité des transcrits fongiques codant des protéines impliquées dans la dégradation et l'absorption des polysaccharides végétaux	20
Patricia Luis¹, Florian Barbi¹, Coralie Damon¹, Laurent Vallon¹, Elsa Prudent¹, Laurence Fraissinet-Tachet¹, Roland Marmeisse¹	20
O4 - Une nouvelle vision de l'histoire de vie des agents phytopathogènes.....	21
Caroline Monteil^{1,*}, Odile Berge^{1,2}, Caroline Guilbaud¹, Charlotte Chandeysson¹, Cindy Morris¹	21
O5 - Développement d'une approche en métagénomique pour discriminer les espèces proches et identifier les espèces peu abondantes dans un écosystème complexe	22
Anne-Laure Abraham, Mathieu Almeida, Nicolas Pons, Emmanuelle Le Chatelier, Sean Kennedy, Jean-Michel Batto et Pierre Renault	22
O6 - Étude de l'écosystème fromager par une approche méta-transcriptomique	23
Cécile Straub¹, C Monnet¹, F Irlinger¹, S Landaud¹, P Bento², V Loux², A Teissandier³, J Aubert³, N Pons⁴, S Kennedy⁴, E Guédon⁴, D Swennen⁴, D Onésime⁴, JM Beckerich⁴, P Bonnarme¹	23
Communication supplémentaire à propos des collections microbiennes.....	25
Think out of the box regarding microbial resources value.....	25
Sylvie Lortal¹, Serge Casaregola², Chantal Bizet³ and Erko Stackebrandt⁴	25
Posters – Session 1	26
P1 - Lipolyse par <i>Propionibacterium freudenreichii</i> : identification de deux estérases lipolytiques.....	27
Maria-Claudia Abeijón Mukdsi^{1,2}, H. Falentin¹, M-B. Maillard¹, RB. Medina², S. Parayre¹, SM. Deutsch¹, S. Lortal¹, A. Thierry^{1*}	27
P2 - Régulation du métabolisme de l'acide sialique chez <i>Lactobacillus sakei</i> 23k.....	28
Jamila Anba-Mondoloni, Monique Cornet, Marie-Christine Champomier-Verges	28
P3 - Caractérisation microbiologique du système « microorganismes-bois-aliment » : un projet collaboratif au sein du consortium EMABois.	29
Florence Aviat^{1,2}, Rached Ismail^{1,2}, Albert Rossero¹, Valérie Anthoine^{1,2}, Sandrine Rezé^{1,2}, Catherine Magras^{1,2}, Michel Federighi^{1,2}	29

P4 - Analyse de l'expression de <i>Kluyveromyces lactis</i> en interaction avec <i>Brevibacterium aurantiacum</i> ...	30
Agnès Hébert ¹ , Marie-Pierre Fourquin ² , Julie Aubert ³ , Stéphanie Luiggi ² , Sophie Landaud ² , Pascal Bonnarne ² et Jean-Marie Beckerich ¹	
P5 - Développement de vecteurs d'expression de protéines fluorescentes pour des levures fromagères ...	31
Marie-Thérèse Ledall-Duverne, Dominique Swennen, Agnès Hébert, Jean-Marie Beckerich	
P6 - New glycoside hydrolases evidenced in the human ileo-mucosal microbiota using a functional metagenomic screening	32
Christel Béra-Maillet ¹ , Fabienne Béguet-Crespel ¹ , Joël Doré ¹	
P7 - <i>Bacillus cereus</i> , a model for studying the impact of climate changes on food borne pathogens fate? .	33
Julien Brillard ¹ , Christian Dupont ¹ , Véronique Broussolle ¹ , Thierry Clavel ¹ , Annette Bérard ²	
P8 - The CIRM in the new European landscape of biodiversity preservation: towards a deposition policy for INRA biological resources?	34
Emmanuelle Helloin ¹ , Anne Favel ² , Perrine Portier ³ , Florence Valence-Bertel ⁴ , Serge Casaregola ⁵	
P9 - Genomic insights into the cheese yeast <i>Geotrichum candidum</i>	35
Guillaume Morel ¹ , Lieven Stern ² , Jonathan Kreplak ³ , Fatima Laaghouti ¹ , Sandrine Mallet ¹ , Noémie Jacques ¹ , Djamila Onesime ⁴ , Dominique Swennen ⁴ , Jean-Marie Beckerich ⁴ , Arnaud Couloux ⁵ , Karine Labadie ⁵ , Joëlle Anselem ³ , Jean-Luc Souciet ⁶ , Yves Van de Peer ² , Serge Casaregola ¹	
P10 - Population genetics of <i>Lactobacillus sakei</i> reveals a speciation in three lineages with distinct evolutionary histories.	36
Stéphane Chaillou ^{1,2} , Isabelle Lucquin ^{1,2} , Afef Najjari ³ , Vanessa Schmit ^{1,2} , Monique Zagorec ^{1,2*} , Marie Champomier-Vergès ^{1,2}	
P11 - Double régulation de l'opéron ribose chez <i>Lactobacillus sakei</i> ?	37
Monique Cornet ^{1,2} , Jamila Anba-Mondoloni ^{1,2} , Marie-Christine Champomier-Vergès ^{1,2}	
P12 - Towards a standard operating procedure for DNA extraction from intestinal samples	38
Florence Levenez, Charlene Fouqueray, Fabienne Béguet-Crespel, Adriana Alberti*, Eric Pelletier*, and IHMS consortium, S. Dusko Ehrlich, Joël Doré	
P13 - Ingénierie écologique d'écosystèmes microbiens : impact de facteurs biotiques sur les réseaux métaboliques d'écosystèmes fermentaires	39
Eric Trably ¹ , Yan Rafrati ¹ , Jérôme Hamelin ¹ , Eric Latrille ¹ , Isabelle Meynial-Salles ² , Saida Benomar ³ , Jean-Philippe Steyer ¹ and Marie-Thérèse Guidici-Ortoni ³	
P14 - Les ferments secondaires sont-ils la source du développement de la flaveur des fromages?	40
Julie Ligot ^{1,2} , Sophie Landaud ² , Françoise Irlinger ² , Pascal Bonnarne ² et Soulaf Mansour ¹	
P15 - Crosstalk between commensal bacteria and colonic epithelium in gnotobiotic rats: a key role of acetate in goblet cells differentiation pathway	41
Laura Wrzosek ¹ , Sylvie Miquel ¹ , Marie-Louise Noordine ¹ , Stephan Bouet ^{2,3} , Chantal Bridonneau ¹ , Catherine Philippe ⁴ , Véronique Robert ¹ , Claire Cherbuy ¹ , Philippe Langella ¹ , Muriel Thomas ¹	
P16 - Stratégie d'adaptation et de survie de <i>Propionibacterium freudenreichii</i> dans des conditions simulant celle du fromage à basse température	42
M. Dalmasso ¹ , J. Aubert ² , S-M. Deutsch ¹ , H. Falentin ¹ , J. Tanskanen ³ , Anne Thierry ¹	
P17 - Primo-colonizing bacteria lead to the maturation of colonic epithelium in gnotobiotic rats	43
Julie Tomas ¹ , Laura Wrzosek ¹ , Camille Mayeur ¹ , Chantal Bridonneau ¹ , Marie-Louise Noordine ¹ , Stephan Bouet ^{2,3} , Muriel Thomas ¹ , Philippe Langella ¹ and Claire Cherbuy ¹	
P18 - La résistance des microorganismes eucaryotes des sols aux métaux lourds	44

Laurence Fraissinet-Tachet¹, Frédéric Lehenbre¹, Didier Doillon², Elise David¹, **Laurent Vallon**¹,
Michel Chalot², Jan Colpaert³, Damien Blaudez² et Roland Marmeisse¹ 44

P19 - Modulation of Staphylococcus aureus biofilm formation by lactic acid bacteria : a bacterial solution
to a bacterial problem45
Jennifer Thouin^{1,2}, Lucie Rault^{1,2}, **Florence Valence**^{1,2}, Damien Bouchard^{1,2}, Pauline Goodwin^{3,4,5},
Sébastien Nouaille^{3,4,5}, Marie-Noëlle Madec^{1,2}, Yves Le Loir^{1,2}, Sergine Even^{1,2} 45

Conférencier invité – Session 1

Les microorganismes, les virus et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques

Télesphore Sime-Ngando

telesphore.sime-ngando@univ-bpclermont.fr

LMGE, Laboratoire Microorganismes : Génome et Environnement, UMR CNRS 6023, Clermont Université, Université Blaise Pascal, 24 av. des Landais, BP 80026 - 63171 Aubière Cedex

Le monde microbien, au sens large du terme, comprend les trois grands domaines cellulaires du vivant (*Archea*, *Bacteria*, *Eukarya*) et le domaine proposé (*Akamara*) des agents biologiques acellulaires (virus, plasmides, agents transducteurs généralisés, prions,...). Grâce à des avancées technologiques récentes, notamment celles liées aux approches dites 'omiques', on réalise aujourd'hui l'étendue de leur diversité et de la complexité des métabolismes mis en jeu. En conjonction avec des temps de génération très courts et une capacité de mutations génétiques élevée, les microorganismes sont des acteurs essentiels dans les cycles biogéochimiques qui sous-tendent le fonctionnement de la biosphère. Ils sont omniprésents dans tous les écosystèmes (eau, sol, air), y compris ceux présentant les conditions abiotiques les plus extrêmes. Leur diversité génétique et fonctionnelle est à la base des processus qui régissent le fonctionnement, l'organisation biologique, la dynamique et la pérennité de notre environnement. Dans ce cadre scientifique, les virus, en particulier, suscitent, aujourd'hui, un intérêt croissant. Ils sont omniprésents dans les écosystèmes où ils représentent le plus grand réservoir de biodiversité non caractérisée. Ce sont des particules nanométriques actives (i.e. présence d'acides nucléiques) les plus abondantes dans la biosphère où l'on estime qu'il existe plus de 10^{30} particules virales, pour la plupart aquatiques. L'essentiel des études concernent les phages lytiques dont l'activité se fait à une fréquence estimée à 10^{29} infections par jour, produisant 10^8 à 10^9 tonnes de carbone dissous dans les océans. Dans des conditions mésotrophes, on compte généralement plus de 10 millions de particules virales par millilitre d'eau, responsables, en moyenne, de la conversion de 10 à 50% de la production prokaryotique en matière organique dissoute. Par ailleurs, des analyses moléculaires ont montré le rôle des virus dans l'évolution de certains gènes (DNA polymérases, ribonucléotide réductases, thymidylate synthétases, hélicases), avec remplacement des gènes cellulaires par des copies typiquement virales. Des gènes (*psbA*, *psbD*) codant pour des protéines (D1, D2) essentielles à la photosynthèse ont été mis en évidence chez les cyanomovirus. L'expression de gènes viraux codant pour une fonction aussi essentielle dans la biosphère, aurait contribué à rendre les cyanobactéries plus performantes dans l'environnement primitif. Récemment, il a été montré qu'un gène viral (virus EhV86) code pour la production d'une espèce particulière de glycosphingolipide programmatrice de la mort cellulaire lors d'efflorescences de l'algue coccolithophore *Emiliania huxleyi*, composante majeure dans les cycles biogéochimiques océaniques. Des équipes françaises ont découvert l'existence d'une famille de virus géants (Mimivirus), hôtes viables d'un autre virus (le viriophage Spoutnik) incapable de se multiplier seul dans les cellules hôtes (amibes) mais dans l'usine à virus du Mimivirus. Enfin, on estime que 10^{24} gènes sont transférés par année et par traduction virale, aux cellules de l'environnement. Au cours de cette présentation, il s'agit, à partir des données de la littérature et de nos propres recherches dans les écosystèmes aquatiques, de montrer que la virologie environnementale, discipline relativement récente, est source de nouvelles connaissances, non seulement dans le domaine de la biodiversité et du fonctionnement des écosystèmes, mais également dans le domaine de l'évolution adaptative de la vie cellulaire, puisque les virus sont de puissants vecteurs de la circulation de gènes dans la biosphère.

Mots-clés : Écosystèmes microbiens, virus et autres parasites, phages, écologie moléculaire, biodiversité microbienne, écosystèmes, évolution cellulaire.

Communications orales – Session 1

(par ordre chronologique des présentations)

O1 - Impact des changements globaux et locaux sur les communautés de producteurs primaires microbiens au sein des écosystèmes aquatiques continentaux

Solène Larroudé & Jean-François Humbert

humbert@biologie.ens.fr

Comm orale
Doctorant

INRA, UMR1122 BioEMCo, ENS, 46 rue d'Ulm, F-75230 Paris

UPMC (université Pierre et Marie Curie), CNRS, IRD, ENS, l'U-PEC (université Paris Est Créteil) et AgroParisTech

L'impact des changements globaux sur les communautés de macro-organismes terrestres ou aquatiques, a fait l'objet de très nombreux travaux au cours de la dernière décennie. En revanche, les études disponibles sur les communautés microbiennes sont en nombre beaucoup plus limité même si elles suscitent aujourd'hui un intérêt croissant, à l'exemple des nombreuses publications s'intéressant aux conséquences, sur les coccolithophores, de l'acidification des océans générée par l'augmentation des pressions de CO₂. A travers quelques exemples issus de nos travaux, nous montrerons que les changements globaux, et en particulier le réchauffement climatique, ont un impact sur les producteurs primaires microbiens des écosystèmes aquatiques continentaux. Ces impacts peuvent être directs à l'exemple des effets du réchauffement des eaux qui augmente le taux de croissance des cyanobactéries et ainsi leur fitness au détriment de leurs compétiteurs. Ils peuvent aussi s'exercer de façon indirecte en agissant sur les caractéristiques physiques des milieux (profondeur de mélange des eaux dans les écosystèmes profonds par exemple) et ainsi sur l'accessibilité aux nutriments et/ou à la lumière. L'impact de ces changements globaux ne peut être considéré seul car il se combine toujours à celui des changements locaux s'exerçant à l'échelle de chaque écosystème. C'est ainsi par exemple que la pollution locale des écosystèmes aquatiques par les pesticides semble avoir, tout comme l'élévation des températures, un impact significatif bien qu'encore mal connu, sur la composition des communautés phytoplanctoniques. La combinaison de toutes ces pressions peut aboutir aussi bien à des augmentations qu'à des réductions drastiques de la diversité au sein des communautés phytoplanctoniques avec des conséquences complètement différentes tant en terme de fonctionnement (réseaux trophiques par exemple) que d'usages (production d'eau potable par exemple) des écosystèmes aquatiques.

Mots-clés : réchauffement climatique ; pesticides ; pollution ; biodiversité ; cyanobactéries ; écosystèmes aquatiques continentaux

O2 - How does community structure affect performance of ecosystem function?

Kim Milferstedt, Jérôme Hamelin et Jean-Jacques Godon

kim.milferstedt@supagro.inra.fr

INRA, UR0050 LBE, Avenue des Etangs, F-11100 Narbonne

The anaerobic degradation of complex organic substrates involves a network of coupled steps catalyzed by Bacteria and Archaea. Complete degradation to methane and carbon dioxide largely relies on the structure and composition of the microbial communities. The complete anaerobic foodweb is known in the engineering world under the term anaerobic digestion and is currently facing renewed attention in the field of bioenergy production. Anaerobic digesters are most frequently empirically inoculated with a microbial community that has proven to produce methane under the desired operating conditions. Whether this microbial community compared to communities from other natural or engineered ecosystems produces the highest methane yield or possesses otherwise more beneficial properties has rarely been demonstrated. It may be that a more educated selection of the inocula for anaerobic digesters can further improve process performance.

In our experiment, we therefore screen the metabolic potential of a wide range of inocula in a systematic and standardized procedure. All inocula are incubated with the same radiation-sterilized complex substrate containing cellulosic fibers and polysaccharides (20%), proteins (15%) and lipids (3.5%) suspended in a phosphate buffer at pH 7.5. We adapt the initial community to the complex substrate in semi-continuous reactors over a period of at least 60 days. Several pulses of substrate at a sufficiently high substrate to microorganism ratio of 3 g substrate/g living biomass allow the development of an active adapted community with stable performance towards the end of the incubations. The comparison of the initial and adapted communities by high-throughput sequencing will reveal on the molecular level the changes in the community during the adaptation phase. The adapted community structure is then related to ecosystem function (i.e. methane yield and production kinetics, volatile fatty acid composition) and serves as criterion to classify the microbial communities between highly productive and non-performing ecosystems.

By correlating properties of the microbial communities (e.g. distributions of rank-abundance, apparent taxonomic richness/diversity, phylogenetic diversity, presence/abundance of core species) with the performance of ecosystem functions, we attempt to identify generally applicable molecular indicators that will be useful in the assessment of communities in managed microbial ecosystems but also when evaluating stability of ecosystem function in natural systems.

This project is funded as a small project by the INRA metaprogram MEM.

Mots-clés : Inoculum effect, anaerobic digestion, ecosystem function,

O3 - Effet de l'essence forestière sur la diversité des transcrits fongiques codant des protéines impliquées dans la dégradation et l'absorption des polysaccharides végétaux

Patricia Luis¹, Florian Barbi¹, Coralie Damon¹, Laurent Vallon¹, Elsa Prudent¹, Laurence Fraissinet-Tachet¹, Roland Marmeisse¹

patricia.luis@univ-lyon1.fr

¹ INRA, USC1364 Écologie Microbienne, CNRS, Université Lyon1, 43 bd du 11 Novembre 1918, F-69622 VILLEURBANNE Cedex

La compréhension des réponses des microorganismes du sol à des facteurs abiotiques et biotiques est un objectif majeur en écologie microbienne. En milieu forestier, la qualité de la litière contrôle largement la composition des communautés fongiques du sol qui permettent la décomposition de la matière organique végétale. Ainsi, la nature de l'essence forestière pourrait avoir un impact majeur sur la diversité fonctionnelle de ces microorganismes et sur les processus de dégradation associés. Nous avons mis en place une approche de génomique environnementale, basée sur l'extraction des ARNm eucaryotes à partir d'échantillons de sol et l'amplification des transcrits fongiques codant des protéines impliquées dans l'hydrolyse et l'absorption des principaux polysaccharides végétaux. Celle-ci a mis en évidence une forte influence de l'essence forestière (hêtre *versus* épicéa) sur la diversité des gènes fongiques codant des cellulases, hemicellulases et transporteurs de sucres. En ce qui concerne les transporteurs de sucres participant à l'absorption des produits de dégradation de la cellulose et des hémicelluloses, une expérience préliminaire de complémentation fonctionnelle de mutants de levure a permis de sélectionner 2 systèmes de transport distincts: l'un à large spectre et un autre plus spécifique du mannose. Ce dernier pourrait être spécifique et adapté aux litières sous épicéa qui contiennent 30% de mannose contrairement à celles sous hêtre qui n'en contiennent que 2%.

Références bibliographiques :

Damon et al. (2012) Metatranscriptomics reveals the diversity of genes expressed by eukaryotes in forest soils. PLoS One 7, e28967.

Buée et al. (2011) Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand. Fungal Ecology 4, 22-31.

Mots-clés : Metatranscriptomique, ARNm eucaryotes, décomposition de la matière organique végétale, cellulases/hémicellulases et transporteurs fongiques

O4 - Une nouvelle vision de l'histoire de vie des agents phytopathogènes

Caroline Monteil^{1,*}, **Odile Berge**^{1,2}, Caroline Guilbaud¹, Charlotte Chandeysson¹, Cindy Morris¹

Odile.berge@avignon.inra.fr

¹ INRA, UR0407 Pathologie Végétale, PACA, F-84000 Avignon

² CNRS, CEA, Univ mediter, Cadarache DSV/IBEB/SBVME, F-13108 St Paul-lez-Durance

* Present address : Department of Plant Pathology, Physiology, and Weed Science, Virginia Tech, Blacksburg, 24061, U.S.A.

Aujourd'hui, la recherche sur les microorganismes phytopathogènes est concentrée sur les espaces cultivés. Dans une démarche plus globale et interdisciplinaire, notre équipe étudie ces organismes à plus large échelle, en tenant compte des espaces naturels (1). Un de nos résultats fondateurs est la mise en évidence de populations de la bactérie *Pseudomonas syringae*, dans des compartiments inexplorés : neige, pluie, eau et biofilms (2) des torrents, plantes sauvages, litière végétale (3), manteau neigeux, dans des zones non cultivées. En aval *P. syringae* est également isolée des réseaux d'irrigation et des nappes souterraines. Ces observations conduisent à proposer une histoire de vie qui suit le cycle de l'eau douce (4), y compris dans les nuages et les précipitations (5), ce cycle constituant un vecteur puissant d'échange entre les zones cultivées et les espaces naturels. L'exploration de la structure des populations montre de fortes variations selon les génotypes (6) et soulève des hypothèses sur leur dispersion. Nos données récentes démontrent notamment, la survie et le transport de *P. syringae* dans le sol et suggèrent des flux à travers des matrices solides complexes (sol, sable, alluvions) permettant d'envisager un modèle de transfert.

Connaitre ces habitats, les flux de populations entre compartiments et la diversité des microorganismes phytopathogènes, c'est anticiper les épidémies, trouver des moyens de lutte basés sur l'écologie et comprendre le rôle plus large de ces organismes dans les écosystèmes. Des études en cours sur d'autres organismes associés aux plantes avec d'autres histoires de vie montrent la pertinence d'élargir le champ d'investigation de la phytopathologie.

Références bibliographiques

- 1- Morris CE, Bardin M, Kinkel LL, Moury B, Nicot PC, and Sands DC 2009. Expanding the paradigms of plant pathogen life history and evolution of parasitic fitness beyond agricultural boundaries. *PLoS Pathogens* 5, e1000693.
- 2- Morris CE, Kinkel LL, Xiao K, Prior P & Sands DC. 2007. Surprising niche for the plant pathogen *Pseudomonas syringae*. *Infect Genet Evol* 7, 84-92.
- 3- Monteil C, Guilbaud C, Glaux C, Lafolie F, Soubeyrand S and Morris C E. 2011 Emigration of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* from the leaf litter contributes to its population dynamics in alpine snowpack. *Env Microbio*, sous presse (first pub online dec 11).
- 4- Morris CE, Sands DC, Vinatzer BA, Glaux C, Guilbaud C, Buffière A, Yan S, Dominguez H & Thompson BM. 2008a. The life history of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* is linked to the water cycle. *The ISME J* 2, 321-334.
- 5- Morris CE, Sands DC, Bardin M, Jaenicke R, Vogel B, Leyronas C, Ariya PA & Psenner R. 2008b. Microbiology and atmospheric processes: an upcoming era of research on bio-meteorology. *Biogeosciences Discuss* 5, 191-212.
- 6- Morris CE, Sands DC, Vanneste JL, Montarry J, Oakley B, Guilbaud C, and Glaux C. 2010. Inferring the evolutionary history of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* from its biogeography in headwaters of rivers in North America, Europe, and New Zealand. *mBio*TM 1(3) e00107-00110.

Mots-clés : *Pseudomonas syringae*, habitat, dispersion, bactérie phytopathogène, populations bactériennes, cycle de l'eau

O5 - Développement d'une approche en métagénomique pour discriminer les espèces proches et identifier les espèces peu abondantes dans un écosystème complexe

Anne-Laure Abraham, Mathieu Almeida, Nicolas Pons, Emmanuelle Le Chatelier, Sean Kennedy, Jean-Michel Batto et Pierre Renault

anne-laure.abraham@jouy.inra.fr

INRA, UMR1319 Micalis, F-78350, Jouy-en-Josas

La première étape des analyses métagénomiques vise souvent à caractériser et quantifier les espèces présentes dans un écosystème complexe à partir d'un séquençage de l'ADN extrait des échantillons de cet écosystème. Plusieurs approches existent dans ce but, certaines sont basées sur les ARNs 16S, d'autres sur le comptage de gènes marqueurs (gènes sélectionnés pour discriminer plus facilement les espèces sans ambiguïté).

La première méthode donne des informations limitées à la phylogénie des espèces présentes, ne prend pas en compte certains éléments de l'écosystème (la composante eucaryote par exemple) et peut être sujette à un biais dû à l'amplification des 16S.

La seconde, basée sur le comptage des reads obtenus par séquençage haut-débit sur les gènes marqueurs n'utilise qu'une petite partie des génomes de référence, ce qui en limite la sensibilité.

Nous avons développé une approche qui prend en compte l'ensemble des CDS des génomes de référence et gère les problèmes liés au cross-matching (reads s'alignant avec plusieurs références), éventuellement dû à l'absence de filtrage. Les reads sont donc alignés sur les génomes de références, et les génomes avec suffisamment de reads sont conservés. Puis, nous étudions la répartition des reads sur les génomes de référence et la comparons à la répartition attendue statistiquement si les reads provenaient de ce génome. L'étude de cette répartition permet de discriminer des profils correspondant à la présence d'ADN de souche génétiquement très proche des références, de celui de souche de parenté plus lointaine.

La sensibilité et la robustesse de ce modèle ont été testées dans un premier temps sur des données simulées de mélange de génomes plus ou moins apparentés et de métagénomes. Nous en avons déduit des paramètres nous permettant de classer les résultats et proposer ainsi une liste d'espèces présentes et leur quantification, ainsi qu'une liste complémentaire indiquant la présence d'espèces dont la référence est absente du catalogue, et les références qui leur sont les plus proches (proximité limitée au niveau du genre en général). Nous donnerons quelques exemples des améliorations obtenues par cette méthode sur la discrimination d'espèces proches et la détection d'espèces peu abondantes dans des écosystèmes fromagers et digestifs.

Mots-clés : métagénomique, séquençage haut débit

O6 - Étude de l'écosystème fromager par une approche méta-transcriptomique

Cécile Straub¹, C Monnet¹, F Irlinger¹, S Landaud¹, P Bento², V Loux², A Teissandier³, J Aubert³, N Pons⁴, S Kennedy⁴, E Guédon⁴, D Swennen⁴, D Onésime⁴, JM Beckerich⁴, P Bonnarne¹

Cecile.Straub@grignon.inra.fr

¹ INRA, UMR0782 GMPA, AgroParisTech, F-78850 Thiverval-Grignon

² INRA, UR1077 MIG, F-78352 Jouy-en-Josas

³ INRA, UMR0518 MIA, AgroParisTech, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris Cedex 05

⁴ INRA, UMR1319 Micalis, AgroParisTech, F-78350 Jouy-en-Josas

Jusqu'à récemment, les écosystèmes fromagers ont principalement été étudiés selon des approches descriptives, visant à connaître leur composition microbienne. Le développement de techniques de séquençage à haut débit permet désormais d'étudier l'ensemble du contenu en gènes (métagénome) ou en transcrits (métatranscriptome) permettant ainsi de mieux comprendre le fonctionnement dynamique de ces écosystèmes microbiens.

Dans le cadre du projet de recherche ExEco, nous étudions un écosystème fromager en matrice réelle comportant 6 bactéries : *Lactococcus lactis*, *Arthrobacter arilaitensis*, *Brevibacterium aurantiacum*, *Staphylococcus equorum*, *Hafnia alvei*, *Corynebacterium casei* et 3 levures : *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis* dont les génomes sont séquencés. Deux conditions de salage ont été appliquées et 5 prélèvements ont été effectués au cours de l'affinage des fromages. Une analyse du métatranscriptome couplée à la caractérisation microbiologique/biochimique de ces 2 écosystèmes a été réalisée.

Le séquençage haut-débit des échantillons a permis de générer de 18 à 76 millions de séquences. Environ 50% de ces séquences ont été assignées avec la librairie de référence. L'analyse des premières données de métatranscriptomique des 2 conditions révèle que l'effet du sel joue un rôle important sur la structure et la dynamique de l'écosystème fromager. En effet, l'expression des gènes varie de manière importante en fonction du temps d'affinage et de l'espèce microbienne. *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces hansenii*, *Lactococcus lactis* et *Corynebacterium casei* sont les 4 espèces présentant le plus de transcrits. L'analyse des catégories fonctionnelles de ces gènes exprimés est en cours.

L'intégration des données transcriptomiques avec les données biochimiques permettra de déterminer les grandes fonctions métaboliques intervenant au cours de l'affinage et apportera ainsi une vision globale de l'expression d'un écosystème complexe *in situ*. Cela permettra également à terme de développer des marqueurs moléculaires, indicateurs du fonctionnement de l'écosystème fromager au cours de l'affinage.

Mots-clés : écosystème fromager, flore d'affinage, métatranscriptome, séquençage haut-débit

Communication supplémentaire à propos des collections microbiennes

Think out of the box regarding microbial resources value

Sylvie Lortal¹, Serge Casaregola², Chantal Bizet³ and Erko Stackebrandt⁴

Sylvie.Lortal@rennes.inra.fr

¹ CIRM-BIA, UMR 1253, 65 rue de Saint Briec, 35042 Rennes, France

² CIRM-Levures, UMR 1319 AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon, France

³ CRBIP, Institut Pasteur, 75724 Paris, France

⁴ DSMZ-German Collection of Microorganisms and cell cultures GmbH, D-38124, Braunschweig, Germany

Microbiologists like most scientists are focusing on writing publications related to their results. Isolation of environmental strains, description of new technological properties of interest, whole genome sequencing, new mutants... all lead to nice publications. Definitely, making results publicly available is part of our mission; **however, as microbiologists, we have one more crucial responsibility: to think about the future of the microbial resources described.**

As in "Le Petit Prince" by Saint-Exupéry, the value of the rose **is the time dedicated to her**. The time of a scientist or a technician dedicated to the characterization of one or several strains is of high value, it has a cost, often supported by public funding. So, we are collectively responsible of our microbial "roses". First we, scientists, need to decide which key strains should be absolutely preserved. Then there are two ways to behave responsibly toward the microbial resources of interest:

- i) Keeping the strains within our labs BUT in the right way ensuring long term safe preservation, including accessible and reliable associated data storage, and possible shipping ability.
- ii) Depositing the strains in a public Biological Resource Center (BRC) which will keep them in a high professional and sustainable way. There are several BRCs in Europe (1).

In France, two main microbial BRCs exist, the Pasteur Institute Collection (CIP) and the one created by INRA named CIRM. The latter is a network of five collections, all certified ISO 9001, preserving more than 15,000 strains of plant, food and pathogenic bacteria, yeasts and filamentous fungi. CIRM also coordinated the European infrastructure project EMbaRC (www.embarc.eu) which brought together 8 major microbial BRCs in Europe.

From a survey carried out in the EMbaRC Project, **among 20,000 strains listed in the publications from ten microbial journals covering mostly applied and ecological topics, less than 1% were deposited securely in public collections (2).** Does it mean that the rest, 99% of the resource described are either destroyed or put in a freeze somewhere in one culture...?

What is the real value of a publication if the strain is not accessible anymore? Not kept somewhere with the right minimal associated data in a sustainable way for other scientists or for potential users? Are we working only to write papers or to provide interesting available microbial resources for the future? Just think about this.

Références bibliographiques :

(1) Smith D., (2012) Culture collections. *Adv. Appl. Microbiol.* **79**, 73-118

(2) Stakebrandt E., (2010) Diversification and focusing: strategies of microbial culture collections. *Trends Microbiol.* **18**, 283-287

Mots-clés : microbial resources, strain deposit, Biological Resource Center

Posters – Session 1

(par ordre alphabétique des auteurs-présentateurs)

P1 - Lipolyse par *Propionibacterium freudenreichii*: identification de deux estérases lipolytiques

Maria-Claudia Abeijón Mukdsi^{1,2}, H. Falentin¹, M-B. Maillard¹, RB. Medina², S. Parayre¹, SM. Deutsch¹, S. Lortal¹, A. Thierry^{1*}

[*anne.thierry@rennes.inra.fr](mailto:anne.thierry@rennes.inra.fr)

¹ INRA, Agrocampus Ouest, UMR1253 Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, Rennes

² Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CONICET), Facultad de Bioquímica, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.

Les acides gras libres sont des composés d'arôme importants du fromage, où ils apportent des notes piquantes, rances, fromagères et fruitées. Ils proviennent de l'activité lipolytique des microorganismes. *Propionibacterium freudenreichii*, une espèce utilisée comme levain d'affinage dans l'emmental, est le principal agent de la lipolyse de fromage (1). Notre objectif était d'identifier le/s esterase/s lipolytique/s les plus probablement impliquées dans la lipolyse par *P. freudenreichii*. Comme la lipolyse du fromage se déroule principalement pendant la croissance de *P. freudenreichii*, nous avons focalisé notre étude sur les estérases exposées sur la surface cellulaire ou secrétées. Parmi douze estérases putatives prédites à partir de la séquence du génome de *P. freudenreichii* CIRM-BIA1^T (2), nous avons identifié une estérase secrétée, PF#279, et une estérase putative, prédite comme liée aux enveloppes cellulaires, PF#774 (3). Pour évaluer leur rôle respectif dans la lipolyse, *P. freudenreichii* CIRM-BIA1^T a été inactivée pour les gènes codant ces deux protéines, séparément. Chacun de ces gènes a été aussi surexprimé dans cette souche. Ces mutants ont été évalués pour leur activité lipolytique pendant leur croissance dans un milieu contenant une émulsion de matière grasse laitière. Les mutants sur-exprimant soit PF#279 soit PF#774 ont libéré trois fois plus d'acides gras que la souche sauvage, démontrant que ces deux enzymes sont des estérases lipolytiques. Néanmoins, seuls les mutants inactivés pour PF#279 ont été affectés dans leur activité lipolytique, suggérant que PF#279 est la principale estérase impliquée dans la lipolyse du fromage par *P. freudenreichii* CIRM-BIA1^T, et une enzyme clé dans la lipolyse.

Références bibliographiques :

(1) Dherbécourt, J., C. Bourlieu, M. B. Maillard, L. Aubert-Frogerais, R. Richoux, and A. Thierry. 2010. Time course and specificity of lipolysis in Swiss cheese. *J. Agric. Food Chem.* 58:11732-11739

(2) Dherbécourt, J., Falentin, H., Canaan, S., & Thierry, A. (2008). A genomic search approach to identify esterases in *Propionibacterium freudenreichii* involved in the formation of flavour in Emmental cheese. *Microb. Cell Fact.*, 7, 16

(3) Dherbécourt, J., Falentin, H., Jardin, J., Maillard, M.B., Baglinière, F., Barloy-Hubler, F., Thierry, A. Identification of a Secreted Lipolytic Esterase in *Propionibacterium freudenreichii*, a Ripening Process Bacterium Involved in Emmental Cheese Lipolysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010, 76 (4), 1181-1188.

Mots clés : *Propionibacterium freudenreichii*, lipolyse, fromage, ester

P2 - Régulation du métabolisme de l'acide sialique chez *Lactobacillus sakei* 23k

Jamila Anba-Mondoloni, Monique Cornet, Marie-Christine Champomier- Verges.

Jamila.anba@jouy.inra.fr

INRA, UMR1319 Micalis, F- 78350 Jouy-en-Josas

Lactobacillus sakei appartient à la grande famille des bactéries lactiques. Cette bactérie est adaptée à l'écosystème carné. Elle est en particulier connue pour améliorer la qualité sanitaire de la viande fraîche conservée sous vide. En effet, il est désormais admis que la présence de cette bactérie dans la matrice carnée est en corrélation avec une moindre contamination par des bactéries altérantes. Ce phénomène est vraisemblablement dû à plusieurs propriétés fonctionnelles de cette bactérie, dont une compétitivité nutritionnelle dans l'écosystème carné.

La capacité à métaboliser l'acide sialique, présent sous forme de glycoprotéines, dans les muscles et dans toute cellule de mammifère est une de ces propriétés. Nous avons précédemment montré la fonctionnalité d'un cluster de gènes de *L. sakei* 23K, permettant de produire toutes les protéines nécessaires pour le transport et le métabolisme de l'acide sialique comme source de carbone.

Actuellement, nos travaux se focalisent sur deux objectifs : décrire la régulation de l'expression de ces gènes, et étudier la compétitivité de cette bactérie *via* ce métabolisme face à différentes espèces impliquées dans l'altération, au cours du stockage des viandes sous vide. Les premiers éléments semblent indiquer une double régulation du système impliquant à la fois NanR, régulateur présent chez *L. sakei* et probablement la protéine impliquée dans la répression catabolique, CcpA. La production de ces protéines dans un système hétérologue sera réalisée, afin de les purifier. Ces protéines seront utilisées pour réaliser des expériences de retard sur gel sur les cibles ADN préalablement identifiées.

Pour les expériences de compétition nutritionnelle, différents candidats bactériens altérants ont été identifiés dans notre équipe. Un milieu permettant la croissance de diverses espèces est en cours d'étude. Les travaux préliminaires seront présentés et discutés dans cette affiche.

Mots-clés : Ecosystème carné, *Lactobacillus sakei*, acide sialique, régulation, CcpA

P3 - Caractérisation microbiologique du système « microorganismes-bois-aliment » : un projet collaboratif au sein du consortium EMABois.

Florence Aviat^{1,2}, Rached Ismail^{1,2}, Albert Rossero¹, Valérie Anthoine^{1,2}, Sandrine Rezé^{1,2}, Catherine Magras^{1,2}, Michel Federighi^{1,2}

florence.aviat@oniris-nantes.fr

1 : INRA, UMR1014 SECALIM, Nantes, F-44307.

2 : LUNAM Université, Oniris, Nantes, F-44307

Le bois est largement utilisé en France pour les caquettes et palettes, il est apte au contact alimentaire et son analyse de cycle de vie démontre sa supériorité écologique par rapport à d'autres supports, notamment son bilan carbone. Le règlement européen CE 1935/2004 incite à développer un outil de contrôle qualité microbiologique des emballages en bois. Des méthodes de prélèvement et d'analyse microbiologiques sont développées pour les surfaces plastiques et l'inox, et des normes existent pour le papier et le carton. Le bois n'a pas fait l'objet de développement de méthode spécifique.

Le Consortium scientifique EMABois a réuni plusieurs industriels réunis au sein du SIEL (Syndicat Interprofessionnel de l'Emballage Léger en bois) ainsi que des partenaires académiques (Oniris, ESI Reims, l'Ecole Supérieure du Bois) et des centres techniques. Au sein de ce consortium, les laboratoires experts en Microbiologie : Actilait, FCBA et l'UMR1014 SECALIM INRA/Oniris ont conçu un programme de recherche sur la « Caractérisation du système Microorganismes-Bois-Aliments ». La première étape est de valider une méthode d'extraction des microorganismes présents sur le matériau Bois en laboratoire puis transposée *in situ* afin de mettre en évidence ou pas des migrations microbiologiques entre l'emballage en Bois et la matrice alimentaire en contact direct.

Les trois essences de Bois utilisées en France seront étudiées : peuplier, pin et épicéa. Le périmètre concerné par la thèse concernera les secteurs des fruits et légumes, fromages, produits carnés et produits de la mer. Les microorganismes étudiés appartiendront aux communautés microbiennes explorées lors de cette thèse, en ciblant des « marqueurs » des écosystèmes étudiés. Notre laboratoire étudiera le modèle *Campylobacter*-planche à découper. Cette étude apportera des éléments de réponses au phénomène de contamination croisée et de gestion du risque « *Campylobacter* » dans ce cas.

A terme, des recommandations d'utilisation d'emballages Bois seront décrites dans le cadre du Bois en tant que matériau apte au contact alimentaire respectant la santé du consommateur.

Références bibliographiques :

Règlement CE 1935/2004

Règlement CE 178/2002

Mots-clés : Bois, Aliment, *Campylobacter*, Appréciation du Risque

P4 - Analyse de l'expression de *Kluyveromyces lactis* en interaction avec *Brevibacterium aurantiacum*

Agnès Hébert¹, Marie-Pierre Fourquin², Julie Aubert³, Stéphanie Luiggi², Sophie Landaud², Pascal Bonnarne² et **Jean-Marie Beckerich¹**

Jean-Marie.Beckerich@grignon.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis, F-78850 Thiverval-Grignon

² INRA, UMR782 GMPA, F-78850 Thiverval-Grignon

³ INRA, UMR0518 MIA, AgroParisTech, F-75231 Paris Cedex 05

La levure *Kluyveromyces lactis* et la bactérie d'affinage *Brevibacterium aurantiacum* sont deux composantes de l'écosystème des fromages à croûte lavée. Dans le but d'étudier l'interaction entre ces deux microorganismes en suivant de nombreux paramètres, leur coculture a été suivie dans un milieu liquide chimiquement défini mimant la composition d'un caillé. Au cours de la coculture, une production d'éthanol par fermentation par *K. lactis* a été observée qui est probablement due à une diminution de la disponibilité en oxygène due à la présence de la bactérie. En suivant l'expression de *K. lactis* par transcriptomique en coculture en comparaison de la monoculture, une perturbation du développement cellulaire a été mise en évidence à travers l'induction du réseau des protéines kinases et une perturbation de la composition de la paroi cellulaire de la levure. Ces observations en transcriptomique ont été confirmées par une étude en microscopie qui montre des modifications majeures des cellules de levures, des amas aberrants de chitine et une agglutination des cellules et montre que *B. aurantiacum* perturbe profondément le métabolisme de la levure.

Mots-clés : écologie microbienne, interaction levure-bactérie, transcriptome

P5 - Développement de vecteurs d'expression de protéines fluorescentes pour des levures fromagères

Marie-Thérèse Ledall-Duverne, Dominique Swennen, Agnès Hébert, **Jean-Marie Beckerich**

Jean-Marie.Beckerich@grignon.inra.fr

INRA, UMR1319 Micalis, Équipe Exsel, F-78850 Thiverval-Grignon

Les écosystèmes fromagers sont constitués de levures et de bactéries se développant dans une matrice complexe. Dans le but de comprendre leur métabolisme *in situ*, nous avons développé des vecteurs d'expression de protéines fluorescentes dans des souches fromagères des levures *Yarrowia lipolytica* et *Kluyveromyces lactis*. Dans la souche 1E07 de la levure *Y. lipolytica*, nous avons développé des vecteurs d'expression intracellulaire en utilisant la protéine *redstar* sous le contrôle d'un promoteur constitutif et d'un promoteur inducible. Nous avons utilisé également un vecteur d'expression de la protéine GFP pour marquer la paroi de la levure (J Microbiol Methods. 2008 Feb;72:116-23)..

Pour la levure *K. lactis*., nous avons développé des vecteurs intégratifs pour construire une souche *ura⁻* dans une souche fromagère de *K. lactis* . Les techniques de transformation utilisées ont permis d'obtenir une proportion d'intégrations homologues élevées. A partir de cette souche, nous avons développé des vecteurs d'expression constitutif et inducible de GFP.

Nous présentons les applications de ces souches recombinées dans la matrice fromagère.

Mots-clés : levure, génie génétique, GFP, fromage

P6 - New glycoside hydrolases evidenced in the human ileo-mucosal microbiota using a functional metagenomic screening

Christel Béra-Maillet¹, Fabienne Béguet-Crespel¹, Joël Doré¹

christel.maillet@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis, team Functionality of the Intestinal Ecosystem, F-78350 Jouy-en-Josas

The human gut microbiota is a complex anaerobic ecosystem which is involved in a profusion of functions maintaining homeostasis in the gastrointestinal tract such as the metabolism of dietary fibers. Microbial fermentation of complex plant cell storage glycans and plant cell wall polysaccharides is now recognized as providing human health benefits. Despite extensive studies of the human gut microbiota since the last 20 years, the fibrolytic community is still misunderstood. Biodiversity, preponderance and interactions with other microbial species of the microbiota need to be emphasized.

Most of the previous studies were conducted using feces samples to isolate new fibrolytic strains or examine the biodiversity of the fibrolytic community in the human colon (Chassard et al. 2007, Mirande et al. 2010). Here, we focused on the microbiota from the small intestine, and particularly on the ileo-mucosal microorganisms to examine their capabilities to degrade plant cell wall polysaccharides from the dietary fibers. A functional screening of a large insert metagenomic library highlighted several glycoside hydrolase activities related to different CAZymes and pointed out genes encoding proteins involved in the fixation and transport of oligosaccharides.

This work contribute to a general understanding of the metabolism of dietary fibres assumed by the human gut microbiota, especially in the upper part of the gastrointestinal tract, and to identify the dominant taxa responsible from one of the major function of the human intestinal microbiota, a still poorly known fibrolytic community. It is also a true link between taxonomy and functional approach of the microbiota and the deciphering of the structure and organization of their enzymatic systems.

Références bibliographiques :

Chassard, C., *et al* (2007) Characterization of the xylan-degrading microbial community from human faeces. *FEMS Microbiol Ecol.* 61,121-131

Mirande, C., *et al* (2010) Dietary fibre degradation and fermentation by two xylanolytic bacteria *Bacteroides xylanisolvens* XB1A and *Roseburia intestinalis* XB6B4 from the human intestine. *J Appl Microbiol.* 109, 451-460

Mots-clés : Gut microbiota, fibre, glycoside hydrolases, functional metagenomic

P7 - *Bacillus cereus*, a model for studying the impact of climate changes on food borne pathogens fate?

Julien Brillard¹, Christian Dupont¹, Véronique Broussolle¹, Thierry Clavel¹, Annette Bérard²

julien.brillard@avignon.inra.fr

¹ INRA, UMR408-SQPOV, UAPV, Site Agroparc 84914 Avignon Cedex 9

² INRA, UMR1114-EMMAH, UAPV, Site Agroparc 84914 Avignon Cedex 9

The soil borne bacterium *Bacillus cereus* is also a food borne pathogen, with a genetic structure corresponding to groups with different temperature growth abilities and different degrees of virulence. In the context of Climate Change, soils may change their ecological niches to pathogens. The hypothesis of the selection of mesophilic and thermophilic *B. cereus* strains (frequently human pathogens) over psychrophilic strains (rarely human pathogen) in a soil submitted to droughts/heat waves can be raised. In addition, the increased frequency/intensity of heavy rains caused by climate change could consequently increase the transfer of *B. cereus* from soil to ground water.

During this preliminary study, microbiological methods allowed us to quantify natural *B. cereus* population in an agricultural Mediterranean soil, in water percolated through this soil and in ground water collected 6 m bellow the soil. We also followed the dynamics of a *B. cereus* population introduced into samples of this soil or this ground water, after incubation in standardized conditions of temperature and humidity.

Presence of natural *B. cereus* population was confirmed in soil samples, in water percolated from soil while very few of *B. cereus* cells were detected from ground water samples. The introduced *B. cereus* strain sporulated rapidly in a raw soil, while only a small but significant part of the *B. cereus* population remained viable in ground water after 15 days.

Future work will focus on the dynamics of psychrotrophic or thermophilic *B. cereus* strains introduced into soil samples submitted to droughts and/or heat waves.

Mots-clés : *Bacillus cereus* ; soil ; climate change

P8 - The CIRM in the new European landscape of biodiversity preservation: towards a deposition policy for INRA biological resources?

Emmanuelle Helloin¹, Anne Favel², Perrine Portier³, Florence Valence-Bertel⁴, **Serge Casaregola**⁵

Serge.Casaregola@grignon.inra.fr

¹ INRA, CIRM-BP, UMR1282 ISP Centre de recherche INRA, 37380 Nouzilly

² INRA, CIRM-CF, UMR1163 BCF, 163 avenue de Luminy, 13288 Marseille

³ INRA, CIRM-CFBP, UMR1345 IRHS, 42 rue Georges Morel, 49070 Beaucouzé

⁴ INRA, CIRM-BIA, UMR1253 STLO, 65 rue de Saint Brieuc, 35042 Rennes

⁵ INRA, CIRM-Levures, UMR1319 Micalis, AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon

The *Centre International de Ressources Microbiennes* (CIRM) was created by INRA in 2004. The CIRM is now a network of five collections dedicated to the preservation, distribution and exploration of microbial biodiversity. It preserves more than 15,000 strains of plant, food and pathogenic bacteria, yeasts and filamentous fungi. CIRM is a Biological Research Center (BRC), ISO 9001 certified since 2008.

The CIRM coordinated the European infrastructure project EMbaRC, which brought together 8 major microbial BRCs in Europe (www.embarc.eu). The CIRM is now partner of a larger infrastructure project established on the ESFRI roadmap, MIRRI (Microbial Resource Research Infrastructure). It includes over 70 microbial domain resource centers in 26 European countries (www.mirri.eu).

Type strains are deposited in public collections under the pressure of journal editors and various international committees. However, despite the existence of dedicated BRCs, a very small proportion of published strains are deposited in such structures (1); this restricts further research and jeopardizes valorization of the biological material. To improve this situation, CIRM encourages strain deposit by INRA scientists. In return, CIRM ensures a high standard preservation and an enhanced visibility of the deposited material through its display in various databases (CIRM and FBRCMi databases, WFCC web site, StrainInfo.net...). In addition, CIRM also provides protection of the intellectual properties of the deposited material. Together with Inra scientists, CIRM therefore proposes to establish a deposition policy to improve the availability and visibility of INRA biological resources. This joint enterprise will constitute a strong example for the new landscape of European biodiversity preservation, which is currently being built in the MIRRI project.

Références bibliographiques :

(1) Stakebrandt E, (2010) Diversification and focusing: strategies of microbial culture collections. Trends Microbiol. 18, 283–287

Mots-clés : Biological resources, strain deposit

P9 - Genomic insights into the cheese yeast *Geotrichum candidum*

Guillaume Morel¹, Lieven Stern², Jonathan Kreplak³, Fatima Laaghoutii¹, Sandrine Mallet¹, Noémie Jacques¹, Djamila Onesime⁴, Dominique Swennen⁴, Jean-Marie Beckerich⁴, Arnaud Couloux⁵, Karine Labadie⁵, Joëlle Anselem³, Jean-Luc Souciet⁶, Yves Van de Peer², **Serge Casaregola**¹

Serge.Casaregola@grignon.inra.fr

¹ INRA, CIRM-Levures, UMR1319 Micalis, AgroParisTech, F-78850 Thiverval-Grignon

² Department of Plant Systems Biology, Bioinformatics and Systems Biology (VIB) and Department of Plant Biotechnology and Genetics, Ghent University, Ghent, Belgium

³ INRA , UR1164 URGI, F-78026 Versailles

⁴ INRA, UMR1319 Micalis, AgroParisTech, F-78850 Thiverval-Grignon

⁵ GENOSCOPE/CNS, Evry

⁶ Université de Strasbourg, CNRS, Strasbourg

Geotrichum candidum is found commonly in the environment, in foodstuffs and as an integral part of the natural human microbiota. It is one of the main yeasts in cheese and fermented milk and it is widely used as adjunct culture in the maturation of cheese. Within the framework of the ANR ALIA *Food Microbiomes* project, the genome of a strain isolated from Pont-l'Évêque cheese, CLIB 918 (ATCC 204307), has been sequenced.

Structural annotation of the nuclear genome was performed using the EUGENE pipeline. A total of 6948 protein coding genes (with a total of 2986 introns) have been identified.

Initially, *G. candidum* was thought to be a yeast-like filamentous fungus. We used the genome sequence to perform in phylogenomic analysis. This unambiguously placed *G. candidum* in the *Dipodascacea* clade of the Saccharomycotina yeast subphylum. Among yeasts with a sequenced genome, *G. candidum* is the closest species to *Yarrowia lipolytica*

Initial analysis of the genome strikingly revealed several hundred genes orthologous to fungal genes with no equivalent in yeasts. In some instances, both fungal and yeast orthologs are present in *G. candidum*. These results suggest that either *G. candidum* is an ancient hybrid between a yeast and a filamentous fungus or that it has retained a large number of genes present in fungi during evolution, which have been lost in other yeasts. It is noteworthy that these genes are for most of them involved in metabolism and could play a role in the adaptation of this yeast to the cheese ecosystems.

Mots-clés : cheese yeast, genomics, horizontal gene transfer

P10 - Population genetics of *Lactobacillus sakei* reveals a speciation in three lineages with distinct evolutionary histories.

Stéphane Chaillou^{1,2}, Isabelle Lucquin^{1,2}, Afef Najjari³, Vanessa Schmit^{1,2}, Monique Zagorec^{1,2*},
Marie Champomier-Vergès^{1,2}

Stephane.Chaillou@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis - équipe Flec, F-78350 Jouy-en-Josas

² Agroparistech, UMR Micalis - équipe Flec, F-78350 Jouy-en-Josas

³ Microbiologie, Université de Tunis - Tunis, Tunisie.

* present address : INRA, UMR1014 Secalim, F-44300 Nantes ONIRIS

Lactobacillus sakei plays a major role in meat fermentation and in the preservation of fresh meat. There is a great challenge in trying to exploit this species diversity, because the strains commonly used for meat fermentation may not be those suitable for use as protective cultures. To date, an efficient method to characterize a strain is still lacking. In this study, we have used Multi Locus Sequence Typing and analyzed the polymorphisms and the allelic distribution of 8 loci within a *L. sakei* population of 240 isolates from various ecological origins. We have demonstrated that the species have a complex structure, revealing a pattern of diversity different than those previously reported for that species. First of all, we revealed the existence of several periodic selection scenarios in the species evolutionary history. However, the signature of these events in the contemporary population of isolates is sometimes hidden by pervasive phenomena of intergenic recombination. Nevertheless, using several Bayesian algorithms implemented in STRUCTURE and CLONALFRAME softwares, we demonstrated that the *L. sakei* population analyzed has derived from 3 ancestral populations. The first speciation event has separated lineage 3 from another ancestral lineage whose track has almost vanished in the contemporary population of isolates because a second speciation event has further split this branch into lineage 1 and lineage 2. Lineage 1 is a full panmictic population in which the relative frequency of recombination is about 2.5 times higher than that of mutation, whereas lineage 2 has revealed a high degree of clonality. Lineage 3 is a mixture of evolutionary paths. It represents the oldest branch in the genealogy and has conserved more diversity than the other lineages. Interestingly, our data suggest that lineage 3 is perhaps merging with lineage 2. It is likely that the growth fitness during meat storage processes is one of the possible ecological forces driving this recent species evolution. Based on this hypothesis, the ecological fitness of various strains was tested using vacuum-packed beef Carpaccio as a model. Our knowledge of *L. sakei* strain diversity was then used as a screening program to assess the fitness of strain cocktails and their efficiency to reduce simultaneously the development of several unwanted species naturally present in vacuum-packed Carpaccio.

Mots-clés : phylogenetic, bacterial evolution, biodiversity, meat ecosystems, biopreservation, MLST

P11 - Double régulation de l'opéron ribose chez *Lactobacillus sakei* ?

Monique Cornet^{1,2}, Jamila Anba-Mondoloni^{1,2}, Marie-Christine Champomier-Vergès^{1,2}

Monique.Cornet@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis - équipe FLEC, F -78350 Jouy-en-Josas

² Agro Paris Tech, UMR Micalis, F-78850 Thiverval-Grignon

Lactobacillus sakei est une bactérie lactique non-pathogène. Elle fait partie de la flore naturelle des produits carnés, et se retrouve souvent dominante sur la viande conservée au froid et sous vide. Elle agit en flore positive, compétitrice des flores d'altération, d'où l'importance de son bon développement et de son maintien dans cet écosystème. L'adaptation de cette espèce à sa niche écologique a des raisons multiples parmi lesquelles sa capacité à utiliser les rares sucres disponibles de la viande. Ainsi, la souche 23K est capable de fermenter le ribose. L'opéron qui code pour les protéines responsables de l'utilisation de ce sucre est composé de trois gènes placés sous le contrôle de deux systèmes de régulation. L'un est composé de la protéine RbsR, agissant comme répresseur. L'autre impliquerait une séquence *cre* (catabolite response element), révélée par analyse *in silico* de la partie amont de l'opéron. La présence d'un tel élément suggère une activation ou une répression de type catabolique impliquant le régulateur général CcpA et la protéine Hpr, une des composantes du système des phosphotransférases (PTS). Plusieurs mutants nuls des gènes de l'opéron ribose ou du système PTS ont été construits. Leur croissance en présence de ribose a été mesurée. Le taux de transcription des gènes de l'opéron ribose a été déterminé dans ces différents mutants. Les résultats seront discutés afin de préciser les mécanismes de régulation mis en jeu et ainsi évaluer l'importance de l'utilisation du ribose dans l'adaptation de *L. sakei* à son environnement carné.

Mots clés : écosystème carné, *Lactobacillus sakei*, ribose, régulation

P12 - Towards a standard operating procedure for DNA extraction from intestinal samples

Florence Levenez, Charlene Fouqueray, Fabienne Béguet-Crespel, Adriana Alberti*, Eric Pelletier*, and IHMS consortium, S. Dusko Ehrlich, **Joël Doré**

Joel.Dore@jouy.inra.fr

INRA, UMR1319 Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas

* CEA-Genoscope

Understanding the dynamic and variable nature of human microbial communities is a critical aspect of the challenge before us. A number of actions undertaken by the international scientific community and coordinated by the International Human Microbiome Consortium (IHMC, <http://www.human-microbiome.org/>) have highlighted a clear need to standardize the procedures in the Human Microbiome field. The International Human Microbiome Standards (IHMS, <http://www.microbiome-standards.org/>) project offers to develop standard operating procedures for sample collection, identification and processing. To address this question with respect to DNA extraction, fecal sample aliquots and a mix of strains of gut commensal bacteria were prepared and delivered to 20 partner laboratories worldwide. DNA extracts generated following very diverse procedures were gathered and subjected to quality control for Illumina sequencing. Preliminary assessments stressed the very broad range of DNA extraction efficiencies in terms of quality and yield (range 0,6 to 77 ng/mg stool ; average 35,6). The standard protocol designed at INRA and applied within the programs MetaHIT and MicroObese did stand out as an appropriate reference and will be used i) to define key critical steps in fecal DNA preparation and ii) to define automation strategies for developments within the pre-industrial demonstrator MetaGenoPolis.

Mots-clés : standards extraction metagenome intestinal humain

P13 - Ingénierie écologique d'écosystèmes microbiens : impact de facteurs biotiques sur les réseaux métaboliques d'écosystèmes fermentaires

Eric Trably¹, Yan Rafrafi¹, **Jérôme Hamelin¹**, Eric Latrille¹, Isabelle Meynial-Salles², Saida Benomar³, Jean-Philippe Steyer¹ and Marie-Thérèse Guidici-Orticoni³

eric.trably@supagro.inra.fr; tel : +33 468 425 172

¹ INRA, UR0050 LBE, Avenue des Etangs, F-11100 Narbonne

² INRA, UMR0792 LISBP, 135 avenue de Rangueil F-31077 Toulouse

³ CNRS, UMR7281 BIP, FR3179, 31 chemin Joseph Aiguier F-13402 Marseille cedex 20

Les cultures mixtes constituent une alternative sérieuse aux cultures pures dans le cadre des procédés biotechnologiques. Néanmoins, la présence de nombreuses interactions microbiennes induit une véritable instabilité aux bioprocédés. Au cours de ce travail, une approche d'ingénierie écologique a été développée avec l'utilisation de facteurs biotiques de contrôle d'écosystèmes fermentaires producteurs de biohydrogène (H₂), en bioréacteurs instrumentés.

Les objectifs étaient : (i) d'identifier les espèces clés de ces écosystèmes fermentaires, (ii) d'étudier l'introduction de ces espèces comme facteur biotique de contrôle, et (iii) d'étudier la nature exacte des interactions existant entre ces microorganismes, à l'aide d'un consortium synthétique modèle.

Il a ainsi été observé que les bactéries minoritaires jouaient un rôle majeur dans le métabolisme global de l'écosystème via des interactions majoritairement non trophiques. Sept groupes d'espèces minoritaires ont alors été utilisées comme perturbateurs biotiques et, en présence de certaines souches, la production d'H₂ a pu être multipliée par trois en redirigeant le réseau métabolique global de la culture vers des voies plus favorables. Afin de mieux appréhender la nature exacte des interactions en jeu, un consortium synthétique de deux souches modèles (*Clostridium/Desulfovibrio*) a été utilisé. Il a été montré que les gains en H₂, préalablement observés, étaient dus à une redirection claire des voies métaboliques suite à une interaction non trophique nécessitant un contact physique entre les deux souches (présence de nanotubes). Ces résultats montrent que le contrôle biotique du métabolisme des écosystèmes microbiens par une meilleure compréhension des interactions constitue une voie novatrice de contrôle des cultures mixtes.

Mots-clés : Consortium microbien, Espèces clés, Biohydrogène, métabolismes fermentaires, interactions bactériennes

P14 - Les ferments secondaires sont-ils la source du développement de la saveur des fromages?

Julie Ligot^{1,2}, Sophie Landaud², Françoise Irlinger², Pascal Bonnarne²
et Soulaf Mansour¹

Poster
Doctorant

julie.ligot@grignon.inra.fr

¹ Cargill SAS, 18/20 rue des Gaudines - CS 182215 – F78 105 Saint Germain-en-Laye

² INRA, UMR0782 GMPA, AgroParisTech F-78850 Thiverval Grignon

Les ferments dits secondaires, principalement constitués de bactéries non lactiques, des bactéries et/ou des levures d'affinage, sont constitués de micro-organismes naturellement présents dans l'environnement fromager. Ils interviennent pendant la fabrication fromagère via leurs activités lipolytiques et protéolytiques, et confèrent à chaque fromage des caractéristiques qualitatives spécifiques [1,2].

Le but de cette étude est de sélectionner une association de bactéries lactiques (BL) et de cultures secondaires afin d'aromatiser de façon innovante les pâtes pressées non cuites (PPNC).

Un fromage expérimental, d'environ 25g, mimant un fromage type PPNC a été développé à partir du protocole de Shakeel-Ur-Rehman *et col.* [3]. Il a permis d'étudier différentes associations microbiennes issues d'omission, addition ou substitution de souches à partir d'une association de référence. Les fromages modèles ont été analysés pendant les phases de fabrication et d'affinage. Les flores d'intérêts technologiques ont été dénombrées et leurs activités acidifiante, lipolytique et protéolytique ont été évaluées. La détermination de la composition en composés aromatiques volatils a été réalisée en fin d'affinage.

Le fromage miniaturisé développé s'est avéré être un bon outil pour mimer les conditions de fabrication et d'affinage d'un PPNC. La production de composés aromatiques volatils diffère en quantité et en qualité selon les associations microbiennes considérées. Les associations de BL et de cultures secondaires ont un plus fort potentiel aromatisant et produisent des arômes aux notes fruitées et fraîches (acétate d'éthyle, acétate d'isoamyle, 3-méthylbutanal, 2-méthylbutanal). Les différences entre les saveurs des fromages ont pu être reliées aux activités métaboliques des associations microbiennes.

L'addition de cultures secondaires a amélioré significativement la saveur globale des fromages modèles en leur conférant des notes plus affinées de type fruité. Ces résultats coïncident avec ceux observés par De Freitas *et col.* [4]. Il est envisagé d'évaluer par l'analyse sensorielle les qualités organoleptiques de différentes matrices fromagères réelles type Cheddar inoculées avec ces associations dans le but de valider l'impact des cultures secondaires sélectionnées.

Références bibliographiques :

[1] VILJOEN B. C., 2001. The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *International Journal of Food Microbiology*, **69**, 37-44.

[2] EL SODA M., MADKOR S. A. and TONG P. S., 2000. Adjunct cultures: Recent developments and potential significance to the cheese industry. *Journal of Dairy Science*, **83**, 609-619.

[3] SHAKEEL-UR R., MCSWEENEY P. L. H., FOX P. F., 1998. Protocol for the manufacture of miniature cheeses. *Lait*, **78**, 607-620.

[4] DE FREITAS I., PINON N., MAUBOIS J.-L., LORTAL S. and THIERRY A., 2009. The addition of a cocktail of yeast species to Cantale cheese changes bacterial survival and enhances aroma compound formation. *International Journal of Food Microbiology*, **129**, 37-42.

Mots clés : Cultures secondaires, Fromage, Affinage, Composés aromatiques, Activités métaboliques

P15 - Crosstalk between commensal bacteria and colonic epithelium in gnotobiotic rats: a key role of acetate in goblet cells differentiation pathway

Laura Wrzosek¹, **Sylvie Miquel**¹, Marie-Louise Noordine¹, Stephan Bouet^{2,3}, Chantal Bridonneau¹, Catherine Philippe⁴, Véronique Robert¹, Claire Cherbuy¹, Philippe Langella¹, Muriel Thomas¹

Laura.wrzosek@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis - équipe ProbiHôte, F-78350 Jouy-en-Josas

² INRA, UMR1313 GABI, F-78350 Jouy-en-Josas

³ CEA, DSV, IRCM, SREIT, Laboratoire de Radiobiologie et Etude du Génome, F-78350 Jouy-en-Josas

⁴ INRA, UMR1319 Micalis - équipe AMIPEM, F-78350 Jouy-en-Josas

The gastrointestinal tract (GIT) of mammals is colonized by a community of micro-organisms reaching levels as high as 10^{11} bacteria/g of contents in the colon. This microbiota is involved in intestinal homeostasis and epithelium structure through the control of proliferation and differentiation processes (1). *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii*, dominant members of microbiota, are commensal model bacteria to study host-microbiota interactions. The objective of our work was to understand the effects of these two bacteria on colonic epithelium homeostasis in gnotobiotic rats and underlying this crosstalk using *in vitro* models.

Germ free rats (GF) were orally inoculated with *B. thetaiotaomicron* either alone or with a mix of *B. thetaiotaomicron* and *F. prausnitzii*. Colonic epithelium morphology, crypt depth, cell cycle-related proteins and goblet cells markers were analyzed by histological staining, immunohistochemistry and Western blot in GF (n=12), mono-associated (Ino-Bt, n=18) or di-associated (Ino-Bt+Fp, n=16) rats 30 days after inoculation. In Ino-Bt rats, no effect was observed neither on crypt depth nor on proliferation markers whereas Krüppel Like Factor 4 protein (KLF4), a transcription factor involved in goblet cells differentiation, was significantly increased (2.5 ± 0.8 fold) compared to GF rats. In parallel with this induction of KLF4, a significant increase of goblet cells counts per crypt was observed in the colon of Ino-Bt compared to GF rats. In Ino-Bt+Fp rats, the level of KLF4 protein was decreased compared to Ino-Bt rats, thus suggesting that the presence of *F. prausnitzii* impaired the mucus-stimulatory effect triggered by *B. thetaiotaomicron*. Short Chain Fatty Acids (SCFA) composition was determined on caecal contents by gas chromatograph to assess bacterial metabolic activity. In Ino-Bt rats, acetate was the major SCFA detected ($5.8 \mu\text{mol/g}$) with a low level of propionate ($1.0 \mu\text{mol/g}$) and no butyrate. In Ino-Bt+Fp rats, butyrate was the major SCFA ($1.3 \mu\text{mol/g}$) and acetate concentration was significantly decreased (two-fold) compared to Ino-Bt rats ($3.0 \mu\text{mol/g}$). Using HT29-MTX cells, a cell line producing mucus, we showed that acetate was able to increase significantly KLF4 protein whereas butyrate and propionate have no effects on KLF4 level.

All of these results suggested that acetate, a bacterial metabolite produced by *B. thetaiotaomicron*, could mediate a bacterial signal to promote goblet cells differentiation pathway in the GIT of mono-associated rats. In Crohn's disease patients, a diminished prevalence of *F. prausnitzii* (2) and an increase of mucus production has been often reported (3). Our observations in gnotobiotic rats are coherent with reports made in patients and may provide mechanistic clues to understand the pathophysiology of inflammatory bowel diseases.

Références bibliographiques :

1. Cherbuy, C., Honvo-Houeto, E., Bruneau, A., Bridonneau, C., Mayeur, C., Duee, P. H., Langella, P., and Thomas, M. (2010) Microbiota matures colonic epithelium through a coordinated induction of cell cycle-related proteins in gnotobiotic rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **299**, G348-357
2. Martinez-Medina, M., Aldeguer, X., Gonzalez-Huix, F., Acero, D., and Garcia-Gil, L. J. (2006) Abnormal microbiota composition in the ileocolonic mucosa of Crohn's disease patients as revealed by polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis. *Inflamm Bowel Dis* **12**, 1136-1145
3. Gersemann, M., Becker, S., Kubler, I., Koslowski, M., Wang, G., Herrlinger, K. R., Griger, J., Fritz, P., Fellermann, K., Schwab, M., Wehkamp, J., and Stange, E. F. (2009) Differences in goblet cell differentiation between Crohn's disease and ulcerative colitis. *Differentiation* **77**, 84-94

Mots-clés : intestine, mucus, germ-free rats, microbiota

P16 - Stratégie d'adaptation et de survie de *Propionibacterium freudenreichii* dans des conditions simulant celle du fromage à basse température

M. Dalmasso¹, J. Aubert², S-M. Deutsch¹, H. Falentin¹, J. Tanskanen³, **Anne Thierry¹**

anne.thierry@rennes.inra.fr

¹ INRA, UMR1253 STLO, AGROCAMPUS OUEST, F-35042 Rennes

² INRA, UMR0518 MIA, AgroParisTech, F-75231 Paris

³ Valio Ltd, Finland

Propionibacterium freudenreichii est une espèce utilisée pour l'affinage des fromages comme l'emmental. L'affinage de ce type de fromage inclut une étape de cave dite "chaude" (environ 24°C), pendant laquelle *P. freudenreichii* se développe et produit du CO₂, à l'origine des ouvertures typiques de ce fromage. Une fois suffisamment ouverts, les fromages sont transférés à basse température (environ 4°C). Au froid, *P. freudenreichii* ralentit son métabolisme, mais reste actif [3, 4]. Pour évaluer les stratégies d'adaptation et de survie de *P. freudenreichii* au froid, nous avons effectué le premier suivi global d'expression pour cette espèce. La réponse transcriptomique de la souche-type séquencée et de 6 autres souches de *P. freudenreichii* a été analysée au cours de leur croissance à 30°C puis pendant 9 jours d'incubation à 4°C, dans des conditions simulant celles du fromage et notamment l'absence de privation nutritionnelle. Les principaux analytes ont été quantifiés dans le surnageant de culture. Les changements de métabolisme de la souche CIRM-BIA1^T ont été également suivis pour 28 gènes par RT-qPCR et par une approche de protéomique. L'analyse du transcriptome montre qu'une large part du génome (565, i.e. 25% des séquences codantes du génome de *P. freudenreichii* CIRM-BIA1^T) était différentiellement exprimé pendant la transition de 30°C à 4°C ($P < 0.05$ et |fold change| > 1). A 4°C, une chute générale de l'expression des gènes impliqués dans la machinerie cellulaire était observée. A l'inverse, les gènes impliqués dans la conversion du lactate, de l'alanine et de la sérine en pyruvate, dans la gluconéogenèse et la synthèse de glycogène étaient surexprimés au froid [1]. L'accumulation de glycogène intracellulaire a été confirmée biochimiquement [2]. Par ailleurs, de manière intéressante, le niveau d'expression de différents gènes codant pour des enzymes impliquées dans la formation de composés d'arôme restait constant au cours de l'incubation. Ceci pourrait expliquer la contribution de cette espèce à la formation de l'arôme du fromage même à basse température. Les 7 souches testées montraient des mécanismes d'adaptation similaires [2]. En conclusion, *P. freudenreichii* reste métaboliquement actif à 4°C et induit notamment des voies métaboliques permettant sa survie à long terme.

Références bibliographiques :

- [1] Dalmasso M., Aubert J., Briard-Bion V., Chuat V., Deutsch S.M., EVEN S., Falentin H., Jan G., Jardin J., Maillard M.B., Parayre S., Piot M., Tanskanen J., Thierry A., A temporal -omic study of *Propionibacterium freudenreichii* CIRM-BIA1^T adaptation strategies in conditions mimicking cheese ripening in the cold, PLoS ONE 7 (2012) e29083
- [2] Dalmasso M., Aubert J., EVEN S., Falentin H., Maillard M.B., Parayre S., Loux V., Tanskanen J., Thierry A., Accumulation of intracellular glycogen and trehalose by *Propionibacterium freudenreichii* under conditions mimicking cheese ripening in the cold, Appl. Environ. Microbiol. 78 (2012) in press
- [3] Falentin H., Postollec F., Parayre S., Henaff N., Le B.P., Richoux R., Thierry A., Sohier D., Specific metabolic activity of ripening bacteria quantified by real-time reverse transcription PCR throughout Emmental cheese manufacture, Int. J. Food Microbiol. 144 (2010) 10-19.
- [4] Thierry A., Maillard M.B., Richoux R., Kerjean J.R., Lortal S., *Propionibacterium freudenreichii* strains quantitatively affect production of volatile compounds in Swiss cheese, Lait 85 (2005) 57-74.

Mots-clés : *Propionibacterium freudenreichii*; froid, transcriptomique, glycogène

P17 - Primo-colonizing bacteria lead to the maturation of colonic epithelium in gnotobiotic rats

Julie Tomas¹, Laura Wrzosek¹, Camille Mayeur¹, Chantal Bridonneau¹,

Marie-Louise Noordine¹, Stephan Bouet^{2,3}, Muriel Thomas¹,

Philippe Langella¹ and Claire Cherbuy¹

Poster
Doctorant

julie.tomas@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis - équipe ProbiHôte, F-78350 Jouy-en-Josas

² INRA, UMR1313 GABI, F-78350 Jouy-en-Josas

³ CEA, DSV, IRCM, SREIT, Laboratoire de Radiobiologie et Etude du Génome, F-78350 Jouy-en-Josas

Intestinal microbiota and their hosts have established symbiotic relationships. These interactions start immediately after birth once the progressive colonization of the sterile intestine has occurred. Our objective was to investigate the effects of primo-colonizing bacteria on the maturation of rat colonic epithelium.

In a first experiment, Germ Free (GF) rats were inoculated with intestinal contents of conventional 15d-old suckling rats (15d-suckling) and euthanized 2d, 7d and 14d after the transfer (respectively named Nb-2d, Nb-7d, Nb-14d). Cæcal contents were analyzed for bacterial composition using quantitative PCR. In a second experiment, GF rats were inoculated with a mix of dominant bacteria isolated from 15d-suckling microbiota by cultures on selective media. Here, inoculated groups were euthanized 3d (EELCF-3d) or 21d (EELCF-21d) after the transfer. Isolated bacteria were characterized by 16S rRNA gene sequencing. Cell isolation and histological analyses were performed on the colon. The level and localization of PCNA, cyclin D2 and Ki-67; p21^{Cip1} and p27^{Kip1}; and β -catenin involved respectively in proliferation, cell cycle arrest and in cellular adhesion and Wnt signaling pathway were analyzed by immunohistochemistry or Western blot. The distribution of proliferative and goblet cells were studied by Ki-67 and Alcian blue co-staining.

Escherichia coli, *Enterococcus*, *Lactobacillus* and *Bacteroides* groups dominated the microbiota of suckling and Nb-2d-rats. In Nb-7/14d-rats these bacteria decreased in benefit of *Clostridium leptum*. EELCF microbiota consisted of *E. coli*, *E. faecalis*, *L. intestinalis*, *C. innocuum* and *Fusobacterium varium*. Histological analyses showed the crypt depth was higher in Nb- and EELCF-rats (+25%) than in GF. This is accompanied by a transient increase of the numbers of PCNA- and Ki-67-positive cells in Nb-2d and EELCF-3d groups (+60% of Ki-67-cells). Higher amounts of PCNA and cyclin D2 proteins were also quantified in all groups when compared to GF (+3.0-fold for both proteins). p21^{Cip1} was enhanced in Nb- (+2.5-fold) and EELCF- (+1.9-fold) rats suggesting it may counterbalance the extension of the proliferative zone. We observed discordant results for p27^{Kip1} as it increased in Nb- but not in EELCF-group. Co-staining of Ki-67 and Alcian blue revealed a sequential modulation of the proliferative/differentiated area in inoculated rats. β -catenin was located at the intercellular zone of the colonic epithelium in all groups.

In our model, isolated primo-colonizing bacteria controlled both colonic cell proliferation and cell cycle arrest leading to a structured epithelium. The specific role of each isolated bacteria is under investigation. Such data will be relevant in Western countries where childbirth conditions (e.g. caesarian delivery) could delay and influence implantation of these enteric bacteria.

Mots-clés : Primo-colonization; colonic epithelium; proliferation; differentiation.

P18 - La résistance des microorganismes eucaryotes des sols aux métaux lourds

Laurence Fraissinet-Tachet¹, Frédéric Lehenbre¹, Didier Doillon², Elise David¹, **Laurent Vallon**¹, Michel Chalot², Jan Colpaert³, Damien Blaudez² et Roland Marmeisse¹

laurence.fraissinet@univ-lyon1.fr

¹ INRA, USC1364, Écologie Microbienne, CNRS, Université Lyon1, Bât Lwoff, 10 rue Dubois, F-69622 VILLEURBANNE Cedex

² INRA, UMR1136 IAM, F-54506 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex

³ Centrum voor MilieuKunde, Hasselt University, Agoralaan, 3590 DIEPENBEEK, Belgique.

Un des thèmes majeurs en écologie microbienne est d'apprécier la contribution des espèces microbiennes non cultivables aux processus écologiques majeurs allant de la dégradation de la biomasse végétale à la dégradation de polluants. Un autre thème est l'exploitation de la diversité microbienne non explorée.

Au laboratoire, nous avons conçu une approche de génomique environnementale originale, la "métatranscriptomique fonctionnelle", qui cible spécifiquement les eucaryotes (eg champignons, "protistes") et leurs gènes. Proche mais distincte de la métagénomique, cette approche qui ne nécessite pas de mise en culture préalable donne un accès direct et simultané aux gènes exprimés par toutes les espèces microbiennes eucaryotes, cultivables ou non, vivant dans un même environnement.

Cette nouvelle approche, du sol à l'ADNc environnemental exprimé dans la levure a été utilisée à partir de sols forestiers pour isoler des gènes environnementaux eucaryotes fonctionnels participant à la résistance aux métaux lourds.

Les sols étudiés présentés ici étaient: i) pollué par du plomb, du zinc et du cadmium; ii) anciennement pollué par les mêmes métaux; iii) ou non-pollué. Les banques d'ADNc environnementales correspondantes ont été utilisées pour compléter 3 mutants de levures sensibles soit au Zn soit au Cd. Plusieurs gènes de résistance au Zn et au Cd ont ainsi été isolés, séquencés et caractérisés. Ces gènes de résistance aux métaux lourds seront présentés. En parallèle, la diversité eucaryote a été étudiée en clonant-séquençant les gènes d'ARN ribosomiques 18S.

Ces résultats démontrent le fort potentiel de la métatranscriptomique fonctionnelle qui permet notamment la découverte de nouveaux gènes eucaryotes.

Mots-clés : Microorganismes eucaryotes des sols - métatranscriptomique fonctionnelle - pollution par des métaux lourds

P19 - Modulation of *Staphylococcus aureus* biofilm formation by lactic acid bacteria : a bacterial solution to a bacterial problem

Jennifer Thouin^{1,2}, Lucie Rault^{1,2}, **Florence Valence**^{1,2}, Damien Bouchard^{1,2}, Pauline Goodwin^{3,4,5}, Sébastien Nouaille^{3,4,5}, Marie-Noëlle Madec^{1,2}, Yves Le Loir^{1,2}, Sergine Even^{1,2}

sergine.even@rennes.inra.fr

¹ INRA, UMR1253, Rennes, France

² Agrocampus Ouest, UMR1253, Rennes, France

³ Université de Toulouse; INSA, UPS, INP; LISBP, Toulouse, France

⁴ INRA, UMR792 LISBP Toulouse, France

⁵ CNRS, UMR5504, Toulouse, France

Staphylococcus aureus is of major concern in milk industry, from farm to fork: it is one of the main pathogens responsible for mastitis and the first cause of food poisonings related to milk and milk products, in France. Contamination may come from raw milk (from mastitic cows), human carriers, who may also contaminate dairy products during manipulation, as well as strains endemic in the processing plant environment. The ability of some strains to form biofilms likely contributes to the persistence of *S. aureus*, by reducing efficiency of cleaning or antibacterial treatments. Likewise, biofilm have been evoked to explain chronicity of *S. aureus* mastitis, protecting *S. aureus* cells from host immune response and antibiotic treatments. Preventing biofilm formation by *S. aureus* thus appears as a key step in the fight against this pathogen.

In the recent years, the concept of biological control has emerged as an interesting and sustainable alternative to fight against pathogens. We have recently established the capacity of *L. lactis* to affect *S. aureus* virulence expression under planktonic growth conditions and in cheese matrix (Cretenet et al., EMIR, 2011; Even et al., AEM, 2009).

Here, we investigated the ability of Lactic Acid Bacteria (LAB) and Propionic Acid Bacteria (PAB) to affect *S. aureus* biofilm formation. Supernatants of 4 LAB and PAB species were tested for their ability to affect *S. aureus* biofilm formation by the crystal violet biofilm assay combined with direct visualization of biofilm using confocal microscopy. Several *S. aureus* strains able to produce a biofilm in various amounts, were included in the study. Results showed that LAB and PAB supernatants modulated either positively or negatively the dynamics of *S. aureus* biofilm formation in a strain- and species-dependent manner. These data were confirmed by direct observations of biofilms using confocal microscopy. Different biofilm properties, including biofilm thickness and density and the rate of surface colonization were modified, suggesting LAB and PAB were able to affect primary adhesion and maturation of *S. aureus* biofilm. Identification of mechanisms and effectors involved are under way.

Mots-clés : *Staphylococcus aureus*, biofilm, lactic acid bacteria, biological control, confocal microscopy

Session 2 – Biologie des systèmes & biologie synthétique

Sommaire Session 2 – Biologie des systèmes et biologie synthétique

Conférencier invité – Session 2.....	49
Shared control of gene expression in bacteria by transcription factors and global physiological state	51
Hidde de Jong	51
Communications orales - Session 2	52
O7 - Analyse quantitative des régulations de la traduction chez <i>Lactococcus lactis</i> par une approche de biologie des systèmes.....	53
Flora Picard ¹ , Béatrice Laurent ² , Hélène Milhem ² , Julien Racle ³ , Pascal Loubière ¹ , Vassily Hatzimanikatis ³ , Laurence Girbal ¹ , Muriel Cocaïgn-Bousquet ¹	53
O8 - Dynamique de la transition glucose/acétate chez la bactérie <i>Escherichia coli</i>	54
Brice Enjalbert ¹ , Delphine Ropers ² , Pierre Millard ¹ , Stéphanie Durand ³ , Fabien Letisse ⁴ , Hidde de Jong ² , Jean-Charles Portais ⁴	54
O9 - Growth-rate-dependant protein production in bacteria.....	55
Olivier Borkowski ^{1,2,3} , Anne Goelzer ² , Marc Schaffer ⁴ , Ulrike Mäder ⁴ , Stéphane Aymerich ^{1,3} , Matthieu Jules ^{1,3} and Vincent Fromion ²	55
O10 - Genome-scale metabolic and regulatory network reconstruction of <i>Ralstonia solanacearum</i>	56
Rémi Peyraud ¹ , Ludovic Cottret ¹ , Jérôme Gouzy ¹ , Stéphane Genin ¹	56
O11 - Constraint-based modeling of yeast fermentative metabolism	57
Magalie Celton ¹ , Thibault Nidelet ¹ , Anne Goelzer ² , Carole Camarasa ¹ , Vincent Fromion ² , Sylvie Dequin ¹	57
O12 - Identification and characterization of genes controlling genome stability in the human fungal pathogen <i>Candida albicans</i>	58
Mélanie Legrand , Raphaël Loll et Christophe d'Enfert.....	58
Posters	59
P20 – Identification des mécanismes responsables de la diversité de l'utilisation de l'azote chez les levures <i>Saccharomyces cerevisiae</i> industrielles.	60
Claire Brice ; Isabelle Sanchez; Bruno Blondin	60
P21 - Variabilité de la production des lipides chez les hemiascomycetes (projet incitatif LIPIDHEMI).....	61
Marine Froissard ¹ , Sabrina Mohand Oumoussa ² , Michel Canonge ¹ , Noémie Jacques ² , Bernard Cintrat ¹ , Thierry Chardot ¹ , Serge Casaregola ²	61
P22 - Rôle du régulateur post-transcriptionnel Csr et de la stabilité des ARNm dans l'adaptation d' <i>Escherichia coli</i> à son environnement	62
Thomas Esquerré ^{a,b,c,d} , C. Turlan ^d , A.J. Carpousis ^d , Muriel Cocaïgn-Bousquet ^{a,b,c} , Laurence Girbal ^{a,b,c}	62
P23 - Towards the design and implementation of synthetic metabolic pathways in cells factories.....	63
Stéphanie Heux ^{1,2,3} , J. Poinot ^{1,2,3} , L. Cottret ^{1,2,3} , G. Vieira ^{1,2,3} , S. Massou ^{1,2,3} , S. Sokol ^{1,2,3} , J.C. Portais ^{1,2,3}	63

P24 - Rôle de FlhZ dans l'expression bimodale des gènes flagellaires chez la bactérie entomopathogène, <i>Xenorhabdus nematophila</i>	64
Anne Lanois* , Grégory Jubelin** et Alain Givaudan*	64
P25 - Inactivation of trmFO1a and trmFO2 genes in <i>Mycoplasma capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i> genome using tools of synthetic biology	65
Anne Lebaudy¹ , Pascal Sirand-Pugnet ¹ , Henri Grosjean ² , Stephen Douthwaite ³ , Alain Blanchard ¹ , Carole Lartigue ¹	65
P26 - A hierarchical classification of lignocellulolytic oxidoreductases and related modules integrated in the Carbohydrate-Active EnZymes database : the Auxiliary Activities (AA)	66
Anthony Levasseur¹ , Vincent Lombard ² , Pedro Coutinho ² , Bernard Henrissat ²	66
P27 - Analyse quantitative et cinétique de la production des arômes fermentaires en œnologie	67
C. Camarasa. ¹ , Jean-Roch Mouret¹ , N.H Truong, E. Aguera ² , J.M. Sablayrolles ¹ , S. Dequin ¹	67
P28 - Accumulation et mobilisation des lipides chez la levure <i>Yarrowia lipolytica</i>	68
Jean-Marc Nicaud² , Brigitte Treton ¹ , Thierry Dulermo ^{1,2,3} , Athanasios Beopoulos ¹ , Ramdane Haddouche ^{1,4}	68
P29 - Étude de la dégradation des ARNm chez <i>Lactococcus lactis</i>	69
Sébastien Nouaille , Sandrine Laguerre, Laurence Girbal, Pascal Loubière et Muriel Cocaïgn-Bousquet.....	69
P30 - Une approche de surexpression systématique pour l'identification de nouveaux gènes impliqués dans le métabolisme lipidique chez <i>Yarrowia lipolytica</i>	70
Tristan Rossignol¹ , Cécile Neuvéglise ¹ , Jean-Marc Nicaud ²	70
P31 - Approche multiple aux niveaux gène, génome et transcriptome pour explorer les mécanismes biologiques de résistance du sol à une maladie des racines de plante	71
Alain Sarniguet¹ , Lebreton L. ¹ , Daval S. ¹ , Barret M. ² , Frey-Klett P. ³ , Boutin M. ¹ , Gazengel K. ¹ , Guillermin-Erckelboudt A-Y. ¹ , Marchi M. ¹	71

Conférencier invité – Session 2

Shared control of gene expression in bacteria by transcription factors and global physiological state

Hidde de Jong

Hidde.de-Jong@inria.fr

INRIA Grenoble - Rhone-Alpes, 655 avenue de l'Europe, Montbonnot, 38334 Saint Ismier CEDEX, France

The adaptation of the physiology of the enterobacterium *Escherichia coli* to environmental fluctuations involves system-wide changes of gene expression. This reprogramming of the cell takes place on two different levels: (i) transcription factors that sense metabolic signals and specifically activate or inhibit target genes, and (ii) regulatory mechanisms responding to the overall physiological state of the cell, notably involving adjustments of the activity of the gene expression machinery (RNA polymerase and ribosome). Classical studies in bacterial physiology have shown the close interactions between these two levels of regulation in the adaptive response of bacteria. I will present some recent experimental and modeling results clarifying the relative contributions of these levels to gene expression control during growth transitions.

Communications orales - Session 2

(par ordre chronologique des présentations)

O7 - Analyse quantitative des régulations de la traduction chez *Lactococcus lactis* par une approche de biologie des systèmes

Flora Picard¹, Béatrice Laurent², Hélène Milhem², Julien Racle³, Pascal Loubière¹, Vassily Hatzimanikatis³, **Laurence Girbal**¹, Muriel Coccagn-Bousquet¹

Laurence.Girbal@insa-toulouse.fr

¹ INRA UMR792 LISBP, Université de Toulouse; INSA, CNRS UMR5504, Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, Toulouse, France

² Institut de Mathématiques de Toulouse, UMR 5219, INSA de Toulouse, Université de Toulouse, France

³ EPFL, Lausanne, Suisse

La régulation de l'expression génique chez les bactéries résulte d'un processus complexe comprenant la transcription et la traduction. Les études qui allient les données de transcription et de traduction sont rares et l'importance de chacun de ces deux mécanismes dans un processus global d'adaptation n'est pas encore clairement définie¹. Or, les faibles corrélations entre les niveaux d'ARNm et de protéines chez les bactéries et, plus particulièrement chez la bactérie modèle *Lactococcus lactis*, suggèrent l'importance des régulations traductionnelles².

Nous avons estimé, pour la première fois chez une bactérie, l'état de traduction de chacun des ARNm de la cellule par la mesure du traductome³. Ainsi, pour chaque ARNm, le pourcentage de molécules en traduction et sa densité en ribosomes ont été déterminés. Dans un état physiologique donné, une grande variabilité traductionnelle au sein de la population des transcrits a été observée. D'autre part, à partir de ces données de traductome, le contrôle du mécanisme de traduction a été appréhendé pour chaque ARNm individuellement. Ainsi, les coefficients de contrôle des trois grandes étapes de la traduction ont été estimés par une approche de modélisation mécanistique⁴. Comme attendu, un contrôle au niveau de l'étape d'initiation a été démontré pour la majorité des gènes. Mais de manière plus surprenante, un contrôle par l'élongation (voire même par la terminaison) a été mis en évidence pour un grand nombre de gènes.

De plus, lors l'adaptation à un état de stress (carence nutritionnelle), une régulation de la traduction est mise en place, avec une diminution de la machinerie de traduction et une redistribution de l'efficacité de traduction vers des gènes nécessaires pour lutter contre le stress imposé. En replaçant cette régulation de la traduction dans le contrôle global de l'expression génique en condition de stress, nous avons mis en évidence que les processus de transcription⁵, de traduction et de dégradation des ARNm⁵ pouvaient être impliqués dans l'adaptation à des niveaux variables et avec des effets aussi bien complémentaires qu'antagonistes.

En conclusion, ces travaux ont montré l'importance des régulations de la traduction et souligné la nécessité, pour une meilleure compréhension de la physiologie de la cellule, de caractériser les différents niveaux de régulations de l'expression des gènes.

Références bibliographiques :

¹ Picard F, Dressaire C, Girbal L, Coccagn-Bousquet M. 2009. Examination of post-transcriptional regulations in prokaryotes by integrative biology. *C. R. Biologies* 332.

² Dressaire C, Laurent B, Loubière P, Besse P, Coccagn-Bousquet M. 2010. Linear covariance models to examine the determinants of protein levels in *Lactococcus lactis*. *Mol Biosyst*, 6:1255-1264.

³ Arava Y, Wang Y, Storey JD, Liu CL, Brown PO, Herschlag D. 2003. Genome-wide analysis of mRNA translation profiles in *Saccharomyces cerevisiae*. *PNAS*, 100:3889-3894.

⁴ Mehra A, Hatzimanikatis V. 2006. An algorithmic framework for genome-wide modeling and analysis of translation networks. *Biophys J*, 90:1136-1146.

⁵ Dressaire C, Redon E, Gitton C, Loubière P, Monnet V, Coccagn-Bousquet M. 2011. Investigation of the adaptation of *Lactococcus lactis* to isoleucine starvation integrating dynamic transcriptome and proteome information. *Microb Cell Fact* 10 Suppl 1:S18.

Mots-clés : régulation post-transcriptionnelle-translatome-biologie intégrative-adaptation-densité en ribosomes-*Lactococcus lactis*

O8 - Dynamique de la transition glucose/acétate chez la bactérie *Escherichia coli*

Brice Enjalbert¹, Delphine Ropers², Pierre Millard¹, Stéphanie Durand³, Fabien Letisse⁴,
Hidde de Jong², Jean-Charles Portais⁴

brice.enjalbert@insa-toulouse.fr

¹ INRA, UMR792 LISBP, INSA Toulouse

² INRIA, Grenoble-Rhône-Alpes

³ INSA, Toulouse

⁴ Université Paul Sabatier, Toulouse

Escherichia coli est l'une des bactéries majoritaires de la flore intestinale. Ses souches commensales ou virulentes ont la capacité de s'adapter efficacement à des changements de substrat carboné. Cette propriété est essentielle pour se maintenir et coloniser un milieu aussi changeant que l'intestin. L'adaptation à ces fluctuations permanentes passe par des remaniements métaboliques complexes de par la variété des voies métaboliques concernées et des modes de régulation. Ainsi, la dynamique de ces phases de transition n'est que très peu caractérisée, tant d'un point de vue temporel que mécanistique.

Nos travaux ont porté sur la caractérisation de la transition glucose-acétate, comme modèle biologique de ces transitions. Une stratégie multi-échelle a été mise en place pour explorer l'évolution de l'expression des gènes, des concentrations en métabolites intracellulaires et extracellulaires et le comportement phénotypique au travers de la transition. Les résultats montrent un nombre très faible de variations avant la disparition du glucose. La consommation totale du glucose est le signal déclencheur d'un remaniement profond du métabolisme. La transition du régime glycolytique sur glucose vers le régime gluconéogénique sur acétate est achevée en moins de 40 minutes. Comme attendu, le métabolome se réajuste dans les minutes qui suivent la disparition du glucose. De façon surprenante, il en est de même de l'expression génique. La stratégie d'*Escherichia coli* sur la transition n'est donc pas dans l'anticipation mais mise sur la rapidité d'exécution. Ces résultats ont servi de base à un effort de modélisation dynamique capable de rendre compte des résultats expérimentaux et de la double complexité métabolique et régulateur. Ces travaux constituent la première description physiologique et moléculaire de la transition glucose-acétate. Cette base cognitive est désormais exploitée pour appréhender les mécanismes de contrôle de l'adaptation métabolique.

Mots-clés : *E. coli*, métabolisme, transition, phénotype, transcription, métabolites, modélisation

O9 - Growth-rate-dependant protein production in bacteria

Olivier Borkowski^{1,2,3}, Anne Goelzer², Marc Schaffer⁴, Ulrike Mäder⁴,
Stéphane Aymerich^{1,3}, Matthieu Jules^{1,3} and Vincent Fromion^{‡2}

Comm orale
Doctorant

olivier.borkowski@grignon.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis, Jouy-en-Josas F78350, France

² INRA, Mathématique Informatique et Génome UR1077, F-78350 Jouy-en-Josas, France

³ AgroParisTech, UMR Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

⁴ Institute for Microbiology, Ernst-Moritz-Arndt-University Greifswald, 17487 Greifswald, Germany.

In bacteria, resources allocation to cellular processes is tightly controlled to reach optimal growth rate. Protein synthesis, as the most energy-demanding cellular process, requires a precise regulation to optimize resources allocation [1,2]. In steady-state growth, protein production is under specific control of environmental stimuli and current theories suggest that the translation efficiency remains invariant. Thus, the drop in abundance of a constitutively expressed protein with increasing growth rate only results from the growth-rate-dependent dilution [3]. Conversely, ribosome content drastically increases with increasing growth rate suggesting a change of the translation efficiency [4].

To explain this apparent paradox, we constructed a total of 18 strains combining the *gfpmut3* gene under the control of 2 constitutive promoters and 9 translation initiation sequences (TIRs). In all strains, the measured GFP abundance decreased with increasing growth rate and is only partially explained by dilution. GFP abundance dropped even more for constructions with TIRs exhibiting lower affinity for ribosomes.

Our knowledge-based mathematical model of translation combined with qPCR and tiling arrays data, revealed that free ribosome abundance drops with increasing growth rate and explains the decrease of protein abundance. Moreover, each TIR exhibits a regulatory function associated to its sequence that specifically allows modulating the amplitude of protein abundance drop.

We provide evidence that free ribosomes participate to resources allocation by controlling production of single proteins *via* specific TIRs. Moreover, my results provide insight into the specific TIRs to be used for synthetic biology to attain the desired protein production in any growth condition.

Références bibliographiques :

1. Goelzer A, Fromion V (2011) Bacterial growth rate reflects a bottleneck in resource allocation. *Biochim Biophys Acta* 1810: 978-988.
2. Molenaar D, van Berlo R, de Ridder D, Teusink B (2009) Shifts in growth strategies reflect tradeoffs in cellular economics. *Mol Syst Biol* 5: 323.
3. Klumpp S, Zhang Z, Hwa T (2009) Growth rate-dependent global effects on gene expression in bacteria. *Cell* 139: 1366-1375.
4. Dennis PP, Bremer H (1974) Macromolecular composition during steady-state growth of *Escherichia coli* B-r. *J Bacteriol* 119: 270-281.

Mots-clés : Growth rate, transcription, translation, bacteria, free ribosome

O10 - Genome-scale metabolic and regulatory network reconstruction of *Ralstonia solanacearum*

Tools for accelerating high-quality reconstruction and simulation of metabolic reprogramming during the infection process.

Rémi Peyraud¹, Ludovic Cottret¹, Jérôme Gouzy¹, Stéphane Genin¹

Remi.Peyraud@toulouse.inra.fr

¹ INRA, UMR0441 LIPM, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes, CNRS, 31326 Castanet-Tolosan.

Systems biology via bottom-up modeling tackles deciphering molecular mechanisms which trigger complex biological system behavior. One highly complex biological system is the host-pathogen interaction, where the infection success of the pathogen relies on its capacity to subvert and exploit the host metabolic network [1,2].

Herein, we established a system level modelisation of the infection process of *Ralstonia solanacearum*, one of the world's most devastating bacterial plant pathogens due to its aggressiveness, large host range, and broad geographical distribution. The infection process of plant requires a metabolic adaptation to host environment [3] and the coordination of various virulent functions including a type 3 secretion system [4]. Expression of these virulence functions is coordinated by a complex regulatory network assuring their adequate expression at each steps of the infection [5].

To study trade-offs between resources available in the host and metabolic cost of the virulence functions we reconstructed a high-quality genome-scale (GS) metabolic network [6] embedded with the complex regulatory network of *R. solanacearum* model strain GMI1000. On purpose, we developed a software for accelerating the reconstruction of GS-models which propagates networks from already reconstructed models via genes homology with *R. solanacearum* genome [7] and standardizes network nomenclature for generating a high-quality draft reconstruction. Then, the GS model which integrates the regulation was designed i) to simulate reprogramming of bacterial metabolism during infection process, ii) to be interfaced with the plant model [8] iii) to explore trade-offs between the costs of various virulence functions via computing multi-objectives optimization [9].

Références bibliographiques:

1. Pritchard L, Birch P (2011) A systems biology perspective on plant-microbe interactions: biochemical and structural targets of pathogen effectors. *Plant Sci* 180: 584-603.
2. Jones JD, Dangl JL (2006) The plant immune system. *Nature* 444: 323-329.
3. Plener L, Boistard P, Gonzalez A, Boucher C, Genin S (2012) Metabolic Adaptation of *Ralstonia solanacearum* during Plant Infection: A Methionine Biosynthesis Case Study. *PLoS One* 7: e36877.
4. Genin S (2010) Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in *Ralstonia solanacearum*. *New Phytol* 187: 920-928.
5. Genin S, Denny TP (2012) Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. *Annu Rev Phytopathol*.
6. Thiele I, Palsson BO (2010) A protocol for generating a high-quality genome-scale metabolic reconstruction. *Nat Protoc* 5: 93-121.
7. Salanoubat M, Genin S, Artiguenave F, Gouzy J, Mangenot S, et al. (2002) Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature* 415: 497-502.
8. de Oliveira Dal'Molin CG, Quek LE, Palfreyman RW, Brumbley SM, Nielsen LK (2010) AraGEM, a genome-scale reconstruction of the primary metabolic network in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 152: 579-589.
9. Schuetz R, Zamboni N, Zampieri M, Heinemann M, Sauer U (2012) Multidimensional optimality of microbial metabolism. *Science* 336: 601-604.

Mots clés: genome-scale metabolic network reconstruction; embedded regulatory and metabolic networks; plant-pathogen interaction; metabolic adaptation

O11 - Constraint-based modeling of yeast fermentative metabolism

Magalie Celton¹, **Thibault Nidelet**¹, Anne Goelzer², Carole Camarasa¹, Vincent Fromion², Sylvie Dequin¹

nidelet@supagro.inra.fr

¹ INRA, UMR1083 SPO, F-34060 Montpellier, France

² INRA, UR1077 MIG, F-78350 Jouy-en-Josas, France

Systems biology has emerged as a key approach to provide a quantitative description of cellular processes and ultimately, to predict how cells function. How metabolic fluxes are modulated by genetic and/or environmental perturbations is a central question to understand yeast physiology. In this context we developed a dedicated constraint-based model of yeast fermentation that was used to quantify the *in vivo* contribution of metabolic pathways (1). The use of this model will be illustrated through two examples. First we will present an analysis of the metabolic flux distribution diversity, based on the comparison of *S. cerevisiae* strains from various origins. Then we will present the evolution of metabolic flux distribution in response to an increase of the NADPH demand. Using a specific genetic device we increased the NADPH demand to between 8 and 40-fold the anabolic demand. We report that yeast responds through a gradual increase in the flux through the PP and acetate pathways. However, for the highest NADPH demand, the model reveals a saturation of the PP pathway and predicts an exchange between NADH and NADPH in the cytosol that may be mediated by the glycerol-DHA futile cycle (1). Combined ¹³C-flux, intracellular metabolite levels and microarrays analyses revealed that the rerouting of carbon flux was achieved mainly via metabolic control and, for the PP pathway, by transcriptional regulation (2).

Références bibliographiques :

(1) Celton M., Goelzer A., Camarasa C., Fromion V. and Dequin S. (2012) *Metabol Eng.* 14: 366-379.

(2) Celton M., Sanchez I., Goelzer A., Fromion V., Camarasa C. and Dequin S. (2012). *BMC Genomics*, In press.

Mots-clés : Yeast, fermentation, constraint-based model, redox balance, MBA, metabolic flux

O12 - Identification and characterization of genes controlling genome stability in the human fungal pathogen *Candida albicans*

Mélanie Legrand, Raphaël Loll et Christophe d'Enfert

melanie.legrand@pasteur.fr

INRA, USC 2019 BPF, Biologie et Pathogénicité Fongiques, Institut Pasteur, Paris, France

Candida albicans is the single most important human fungal pathogen. In clinical settings, a 25-60% mortality rate associated with disseminated infection has been reported, due in part to increasing resistance to the most popularly used drug, fluconazole. Genome changes such as loss of heterozygosity (LOH) are often observed in commensal isolates as well as clinical isolates that have become resistant to antifungal drugs. Because genome plasticity is likely to be crucial for the pathogenicity of this obligate diploid fungus, an insight in genome maintenance is necessary.

We have developed a new overexpression-based approach to identify genes whose overexpression leads to an increase in LOH events in *C. albicans*. To this end, we have taken advantage of the GATEWAY cloning technology to construct a collection of 139 overexpression plasmids. Each plasmid carries a unique 20bp barcode and a specific *C. albicans* gene under the control of a tetracycline-inducible promoter. We have selected the genes based on their GO annotations, relevant to DNA recombination, replication and repair. The barcoded overexpression plasmids have been introduced in a *C. albicans* strain engineered for monitoring LOH events. Two fluorescent cassettes inserted on chromosome 4 allow us to major the rate of LOH in these mutants by flow cytometry.

We will report the genes identified in our screen. Identification of genes whose overexpression triggers genome alterations will allow the characterization of new players in genome maintenance and therefore a better understanding of how genomic instability may contribute to *C. albicans* success as a commensal and pathogen.

Mots-clés : *Candida albicans*, genome stability, overexpression screen, LOH (Loss Of Heterozygosity)

Posters

(par ordre alphabétique des auteurs-présentateurs)

P20 – Identification des mécanismes responsables de la diversité de l'utilisation de l'azote chez les levures *Saccharomyces cerevisiae* industrielles.

Claire Brice; Isabelle Sanchez; Bruno Blondin

brice@supagro.inra.fr

Poster
Doctorant

INRA, UMR1083 SPO, 2 place Viala F-34060 Montpellier, France

La concentration en azote dans les moûts de raisin est un caractère déterminant pour le bon déroulement de la fermentation alcoolique. Une carence en azote peut avoir un impact fort sur le bon déroulement de la fermentation via un effet sur la croissance des levures et/ou leur activité métabolique. Or sur un même milieu carencé en azote, toutes les levures ne vont pas avoir la même efficacité fermentaire. En effet, les levures les mieux adaptées à ce type de milieu auront la capacité de maintenir un flux glycolytique plus important durant la majeure partie de la phase stationnaire.

Ainsi cette étude vise à déterminer les processus physiologiques et moléculaires qui caractérisent la diversité phénotypique des levures face à une carence en azote. Pour cela, nous sommes passés par une approche physiologique classique couplée à une approche transcriptomique comparative en prenant comme paramètre « l'efficacité d'utilisation de l'azote ».

L'ensemble des analyses comparatives ont été réalisées à partir de deux groupes de levures *Saccharomyces cerevisiae* aux caractéristiques phénotypiques les plus extrêmes par rapport au critère azote. Nous avons constitué un groupe de quatre souches à faibles besoins en azote et un groupe de trois souches à forts besoins.

L'approche de physiologie comparative démontre la nécessité de la synthèse protéique dans le maintien du flux glycolytique. Les résultats obtenus indiquent en effet que sur un milieu carencé en azote cette synthèse *de novo* est plus importante chez les souches à faibles besoins en azote par rapport à celles ayant de forts besoins. Elle nous a également permis d'éliminer certaines hypothèses pouvant expliquer ces différences phénotypiques, comme une différence dans la capacité de stockage de l'azote ou bien dans la vitesse d'assimilation des acides aminés.

Ces observations sont directement corrélées avec les résultats fournis par l'approche transcriptomique. En effet, lors de carences azotées, les souches à faibles besoins ont tendance à sur-exprimer les gènes liés à la synthèse des ribosomes et ceux impliqués dans le RNA processing. Les souches à forts besoins sur-expriment quant à elles les gènes impliqués dans le transport des sources azotées.

Mots-clés : fermentation œnologique, carences azotées, transcriptome

P21 - Variabilité de la production des lipides chez les hemiascomycetes (projet incitatif LIPIDHEMI)

Marine Froissard¹, Sabrina Mohand Oumoussa², Michel Canonge¹, Noémie Jacques², Bernard Cintrat¹, Thierry Chardot¹, Serge Casaregola²

marine.froissard@versailles.inra.fr

¹ INRA, AgroParisTech, UMR 1318 IJPB, Équipe Dynamique et Structure des Corps Lipidiques (DSCL), 78026 Versailles.

²CIRM-Levures, UMR 1319 Micalis, INRA/AgroParisTech, 78850 Thiverval-Grignon

Dans le contexte actuel d'épuisement des ressources fossiles, d'augmentation du prix du pétrole et de protection de l'environnement, la valorisation des huiles issues de la biomasse pour l'énergie et la chimie verte prend de l'importance. Deux sources sont envisagées, celles des huiles végétales (colza ou tournesol) déjà bien implantées, et celle des huiles produites à partir de microorganismes (algues et levures), actuellement en plein essor. Afin de répondre aux besoins des filières chimie verte et nutrition-santé, il est nécessaire d'orienter la production de lipides vers des molécules "à façon" répondant à des contraintes d'usage (longueur de chaînes carbonées ; nombre, nature et position des insaturations ; présence de groupement fonctionnels ; etc). Ces molécules existent naturellement chez de nombreux organismes, il est donc essentiel d'identifier les voies métaboliques à l'origine de cette diversité afin d'exploiter la ressource génétique du vivant pour l'élaboration d'organismes performants pour la production de ces lipides

Des analyses exploratoires de la teneur en acides gras effectuées sur différentes espèces de levures fournies par le CIRM-Levures ont révélé la présence de profils très contrastés entre les souches. On observe la présence d'acides gras courts dans un nombre très restreint d'espèces (dites post-WGD, dont l'ancêtre a subi la duplication du génome) ou de très fortes teneurs en acide gras polyinsaturé (AGPI) dans certains isolats géographiques d'espèces du genre *Debaryomyces*. Une analyse bioinformatique de la présence de certains gènes dans les levures dont le génome est séquencé indique une distribution atypique en accord avec les observations sur la production d'AGPI.

L'ensemble de ces observations, l'expertise des équipes en présence et les données de séquences disponibles ont permis d'amorcer un travail original autour de la biologie du système de production des différents types d'acides gras à l'intérieur du clade des levures hémiascomycètes qui pourrait déboucher sur la mise en évidence de souches ou d'espèces plus performantes pour la production de ces lipides d'intérêt.

Mots-clés : lipides, acides gras courts, omega3, hemiascomycètes, phylogénie

P22 - Rôle du régulateur post-transcriptionnel Csr et de la stabilité des ARNm dans l'adaptation d'*Escherichia coli* à son environnement

Thomas Esquerre^{a,b,c,d}, C. Turlan^d, A.J. Carpousis^d, Muriel Coccagn-Bousquet^{a,b,c}, **Laurence Girbal**^{a,b,c}

esquerre@insa-toulouse.fr

a Université de Toulouse; INSA, UPS, INP; LISBP, 135, avenue de Rangueil, 31077 Toulouse, France

b INRA, UMR792 Ingénierie des systèmes biologiques et des procédés, 31400 Toulouse, France

c CNRS, UMR5504, 31400 Toulouse, France

d Laboratoire de Microbiologie et Génétique Moléculaires, UMR5100, Centre National de la Recherche Scientifique et Université Paul Sabatier, Toulouse, France.

Chez *Escherichia coli*, le système de régulation post-transcriptionnel global Csr, via la protéine CsrA, affecte la stabilité des ARNm régulant ainsi bon nombre de fonctions cellulaires dont certaines sont directement impliquées dans l'adaptation de la bactérie à son environnement (métabolisme du carbone, production de biofilm, virulence...)¹. S'il a été précédemment établi que CsrA pouvait se fixer sur certains messagers et réguler leur expression, aucune étude à l'échelle omique ne liste l'ensemble des ARNm dont la stabilité est affectée par la protéine². Dans ce contexte, ni le mécanisme du système Csr *in vivo* ni l'étendue de son contrôle ne sont encore bien compris.

Pour identifier les cibles de CsrA, un mutant de délétion partielle *csrA* (gène essentiel) a été construit par une méthode basée sur les propriétés de recombinaison du phage lambda³. La caractérisation phénotypique de ce mutant a confirmé l'altération de l'expression de la protéine CsrA. Cependant, cette délétion partielle du gène *csrA* entraîne une diminution significative du taux de croissance par rapport à la souche sauvage. Des travaux antérieurs menés au sein de l'équipe ont montré par ailleurs que, chez les bactéries, le taux de croissance affectait fortement la stabilité des ARNm⁴. En conséquence, pour distinguer les variations de stabilité des ARNm liées à la mutation de *csrA* de celles induites par la diminution du taux de croissance, nous avons évalué l'impact du taux de croissance sur la stabilité des ARNm à l'échelle omique. Ainsi, la stabilité de chaque ARNm (« stabilome ») a été mesurée, dans la souche sauvage d'*E. coli*, pour cinq taux de croissance différents sans changer la composition du milieu de culture.

Pour la première fois chez *E. coli*, nos travaux démontrent à l'échelle omique que la diminution du taux de croissance entraîne une stabilisation globale des messagers. De plus, l'intégration des mesures de concentrations d'ARNm (données transcriptomiques) et des données de stabilité des transcrits permettra d'évaluer le poids relatif de la transcription et de la dégradation des ARNm dans la régulation de l'expression génique en fonction du taux de croissance. Enfin, cette étude nous permettra d'évaluer l'impact du régulateur post-transcriptionnel global CsrA sur la stabilité des ARNm afin de mieux comprendre son rôle dans l'adaptation d'*E. coli* à son environnement.

Références bibliographiques :

1. Timmermans, J. & Van Melder, L. Post-transcriptional global regulation by CsrA in bacteria. *Cell. Mol. Life Sci* **67**, 2897-2908 (2010).
2. Liu, M.Y. & Romeo, T. The global regulator CsrA of *Escherichia coli* is a specific mRNA-binding protein. *J. Bacteriol* **179**, 4639-4642 (1997).
3. Datsenko, K.A. & Wanner, B.L. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**, 6640 -6645 (2000).
4. Redon, E., Loubière, P. & Coccagn-Bousquet, M. Role of mRNA stability during genome-wide adaptation of *Lactococcus lactis* to carbon starvation. *J. Biol. Chem* **280**, 36380-36385 (2005)..

Mots-clés : adaptation - stabilité des ARN - *Escherichia coli* - système CSR - régulation post-transcriptionnelle

P23 - Towards the design and implementation of synthetic metabolic pathways in cells factories

Stéphanie Heux^{1,2,3}, J. Poinot^{1,2,3}, L. Cottret^{1,2,3}, G. Vieira^{1,2,3}, S. Massou^{1,2,3}, S. Sokol^{1,2,3},
J.C. Portais^{1,2,3}

Stephanie.heux@insa-toulouse.fr

¹ Université de Toulouse; INSA, UPS, INP; LISBP, 135 Avenue de Rangueil, F-31077 Toulouse, France

² INRA, UMR792, Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, F-31400 Toulouse, France

³ CNRS, UMR5504, F-31400 Toulouse, France

The use of renewable carbon resources for cost-effective, microbial production of chemicals and biofuels has become a major issue of white biotechnology. A key objective is the development of novel biotechnological processes that will provide new product itineraries for biorefineries, based on metabolic engineering, synthetic biology and predictive biotechnology. *E. coli* and *S. cerevisiae* are well-known microbial systems that constitute good chassis or platforms for the construction of cell factories. In this context, main challenges are (i) to get efficient control and optimization of the metabolism of industrially-relevant microorganisms; (ii) to comprehensively understand the impact of pathway engineering within the context of the entire host metabolism; (iii) to diagnose stresses due to product synthesis or to extreme environmental conditions; and (iv) to design novel metabolic pathways and complete metabolic networks which display functions that do not exist in nature. To address these challenges, we are developing a general strategy for the system-level understanding of metabolic organization and adaptation in *E. coli* and *S. cerevisiae*. This is achieved by combining both experimental - molecular, biochemical & physiological characterizations, omics methods (metabolomics and fluxomics) - and *in silico* modelling approaches. In this presentation the recent developments in both *in silico* and experimental approaches for the comprehensive investigation of metabolic systems will be presented. In particular, we will illustrate how these methods can guide microbial engineering by pinpointing the most promising strategies to improve metabolic performances and can provide valuable insight into the organization and operation of natural and synthetic metabolic pathways.

Mots-clés : White biotechnology, metabolic investigations, *in silico* and omics approaches

P24 - Rôle de FliZ dans l'expression bimodale des gènes flagellaires chez la bactérie entomopathogène, *Xenorhabdus nematophila*

Anne Lanois*, Grégory Jubelin** et Alain Givaudan*

lanois@univ-montp2.fr

tel : 04 67 14 48 12

* : UMR1333 DGIMI INRA-UM2 MONTPELLIER

** : UR454 Microbiologie INRA Clermont-Ferrand-Theix

Xenorhabdus nematophila est une entérobactérie mobile, symbiotique de nématode et pathogène d'insectes. Le régulon flagelle comprend 50 gènes organisés en trois classes régulées de façon hiérarchique. Chez *X. nematophila*, les mutants *flhDC* (opéron maître du régulon) et *fliAZ* (opéron de classe II) sont immobiles et ont perdu leurs activités hémolytique et lipase (1).

Afin de connaître le rôle exact de FliZ dans la régulation de l'expression des gènes flagellaires, un mutant *fliZ* de *X. nematophila* a été construit. Ce mutant est non hémolytique, ne produit pas de lipase et sa mobilité est très faible comparée à la souche sauvage.

Le transcriptome du mutant a été analysé par RNA-Seq et RT-qPCR. L'expression de tous les gènes flagellaires est diminuée comparée à la souche sauvage, corroborant ainsi les phénotypes observés chez le mutant *fliZ*.

Par analyse en cytométrie de flux d'une fusion transcriptionnelle GFP, nous avons démontré que le gène *flgB* (classe II) présente une expression bimodale en phase exponentielle de croissance. Les populations GFP- et GFP+ ont été triées par FACS Aria et analysées par RT-qPCR. Dans la population GFP-, les gènes flagellaires de classe II et III ont une expression plus faible que dans la population non triée.

Chez le mutant *fliZ*, cette fusion est également hétérogène suggérant que la boucle de rétroaction positive exercée par FliZ sur le régulon flagelle n'est pas responsable de cette bimodalité.

Le rôle de ces sous-populations dans le processus infectieux de *X. nematophila* sera recherché chez l'insecte, ainsi que le mécanisme moléculaire responsable dans cette bimodalité.

Références bibliographiques :

1. Lanois A, Jubelin G, Givaudan A (2008) FliZ, a flagellar regulator, is at the crossroads between motility, haemolysin expression and virulence in the insect pathogenic bacterium *Xenorhabdus*. Mol Microbiol 68: 516-533.

Mots-clés : bactérie pathogène, régulateurs flagellaires, RNA-Seq, bistabilité, tri cellulaire

P25 - Inactivation of *trmFO1a* and *trmFO2* genes in *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* genome using tools of synthetic biology

Anne Lebaudy¹, Pascal Sirand-Pugnet¹, Henri Grosjean², Stephen Douthwaite³, Alain Blanchard¹, Carole Lartigue¹

anne.lebaudy@bordeaux.inra.fr

1- INRA, UMR1332 BFP, Biologie du Fruit et Pathologie, Univ. Bordeaux, F-33140 Villenave d'Ornon, France

2- Centre de Génétique Moléculaire, UPR 3404, CNRS, Associée à l'Université Paris-Sud 11, FRC 3115, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

3-Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Southern Denmark, Campusvej 55, DK-5230 Odense M, Denmark

Most non-coding RNAs must be post-transcriptionally modified on specific nucleotides to be fully active during protein synthesis. One such modified nucleotide is 5-methyluridine (m5U) that is almost universally found in tRNA and rRNA, in the three domains of life. The most conserved m5U is at position 54 in the tRNA T-loop. In *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, m5U-54 modification is catalyzed by the S-adenosyl-L-methionine-dependent-methyltransferase (TrmA) and the phylogenetically unrelated folate-dependent-methyltransferase (TrmFO), respectively. Two other m5U are found in the 23S rRNA at positions 1939 (in all bacteria) and 747 (less conserved). In *E.coli*, these modifications are catalyzed by two distinct site-specific SAM-methyltransferases (RlmC and RlmD), while in *B. subtilis*, a single multi-site specific SAM-methyltransferase (RlmCD) catalyzes both reactions. Analysis of mollicute genomes has revealed the presence of three genes potentially involved in m5U-54 formation in tRNA. They are orthologs of *B. subtilis* *trmFO* (*trmFO1a*, *trmFO1b*, *trmFO2*). In *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* (Mcap), as in most mollicutes, no ortholog of RlmC, RlmD or RlmCD has been found. Despite this, MALDI/mass-spectrometry analysis has shown that Mcap 23S rRNA does indeed possess m5U-1939, suggesting that one of the TrmFO enzymes might catalyse this modification. Two *trmFO* orthologs have been predicted in Mcap (*trmFO1a* and *trmFO2*) while no m5U-54 modification of tRNA was observed. Therefore, we hypothesized that the specificity of TrmFO-related enzymes might have evolved in some mollicutes from tRNA-54 to 23S rRNA-1939. This hypothesis is being tested by mutagenesis of *trmFO1a* and *trmFO2* in Mcap. Recent work from the J. Craig Venter Institute showed that mycoplasma genomes can be cloned and manipulated in yeast and transplanted back in mycoplasma cells. We have used this approach to produce Mcap cells lacking *trmFO1a* and/or *trmFO2*, and these will be analyzed for m5U-RNA modifications including that at nucleotide 1939.

Mots-clés : Mycoplasma, gene inactivation, transplantation, Yeast, TREC method

P26 - A hierarchical classification of lignocellulolytic oxidoreductases and related modules integrated in the Carbohydrate-Active EnZymes database : the Auxiliary Activities (AA)

Anthony Levasseur¹, Vincent Lombard², Pedro Coutinho², Bernard Henrissat²

anthony.levasseur@univ-amu.fr

¹ INRA, Aix Marseille Université, UMR1163 BCF, ESIL Polytech, F-13288 Marseille, France

² AFMB, Aix-Marseille Université, CNRS UMR7257, 13288 Marseille Cedex 09, France

For decades, the plant cell wall deconstruction has been extensively studied and the mechanisms involved in lignocellulolysis were progressively deciphered for fundamental and applied purposes. The understanding of the mechanisms of lignocellulolysis require an entire vision of the catabolism for all its main components i.e. cellulose, hemicellulose, pectin and lignin (the aromatic and hydrophobic polymer).

In Glycogenomics, the building and the breakdown of the carbohydrates and glycoconjugates are carried out by a diversity of Carbohydrate-Active Enzymes i.e. CAZymes (Cantarel et al. 2009). Contrary to the specificity of CAZymes, ligninolytic enzymes generate highly reactive and non-specific free radicals, which then effect the cleavage of carbon-carbon and ether inter-unit bonds. Thus, the enzymatic mechanism of ligninolysis is referred as an “enzymatic combustion”. In 2008, a dedicated database, called Fungal Oxidative Lignin enzymes (FOLy), was created in order to classify all enzymes potentially involved in lignin catabolism (Levasseur et al. 2008).

A new classification has been proposed in order to add essential conceptual and technical improvements to the database (Levasseur, Henrissat; in preparation). Thus, all ligninolytic enzymes families were integrated in a new category called Auxiliary Activities (AA) and integrated in the CAZy database (<http://www.cazy.org>). Auxiliary Activities are a widespread group of catalytic and non-catalytic modules involved in the plant cell wall degradation. The criteria for the integration in the AA classification consist in their potential action to assist the main carbohydrate-active enzymes (CAZymes) families to get access to the carbohydrates encrusted in the plant cell wall lignocellulose. In conclusion, this new AA category aims at providing the means to get new insights for the full understanding of the plant cell wall digestion.

Références bibliographiques :

Cantarel et al. The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for Glycogenomics. *Nucleic Acids Res.* 2009, 37:D233-8.

Levasseur et al. FOLy: an integrated database for the classification and functional annotation of fungal oxidoreductases potentially involved in the degradation of lignin and related aromatic compounds. *Fungal Genet Biol.* 2008, 45:638-45.

Mots-clés : Genome annotation, fungal genomic, functional inference, ligninolytic enzymes, plant cell wall degradation

P27 - Analyse quantitative et cinétique de la production des arômes fermentaires en œnologie

C. Camarasa.¹, **Jean-Roch Mouret**.¹, N.H Truong, E. Aguera², J.M. Sablayrolles¹, S. Dequin¹

mouretj@supagro.inra.fr

¹INRA, UMR 1083 "Sciences Pour l'Oenologie", 2 Place Viala, 34060 Montpellier Cedex 1, France

²INRA, UE 999, F-11430 Gruissan, France

La production des arômes fermentaires par la levure pendant la fermentation œnologique fait appel à un métabolisme complexe, mettant en jeu de nombreuses voies de synthèse fortement connectées et interdépendantes et dont les précurseurs sont issus à la fois du métabolisme carboné central (MCC) et de l'assimilation des acides aminés (métabolisme de l'azote). A ce jour, il n'existe pas de vision intégrée du fonctionnement de ce métabolisme.

Dans ce contexte, l'objectif du projet Sys-Arômes (financé dans le cadre de l'AO MICA-CEPIA 2010) est de générer des connaissances pour comprendre et décrire la production de ces arômes fermentaires en intégrant les aspects quantitatifs et dynamiques.

Nous avons tout particulièrement étudié l'impact de la source d'azote sur la synthèse des alcools supérieurs, précurseurs des esters d'acétates, ayant un impact organoleptique majeur.

Tout d'abord, les cinétiques de synthèse des composés d'arômes ont été déterminées avec précision à l'aide d'un système de suivi en ligne (Mouret *et al.*, 2012), lors de fermentations avec des concentrations en azote assimilable différentes (ratio ammonium/acides aminés constant). La production de propanol est directement proportionnelle à la quantité d'azote du milieu et s'effectue uniquement durant la phase de consommation de l'azote. Cet alcool supérieur peut donc être considéré comme un marqueur de consommation de l'azote assimilable. Par contre, la synthèse d'isobutanol et d'alcool isoamylique (IAA) se poursuit au-delà de l'épuisement en azote. La quantité initiale d'azote module différemment les cinétiques de production de ces deux composés, bien qu'ils soient formés à partir de précurseurs céto-acides de structure très proches et en faisant appel aux mêmes activités enzymatiques.

Une analyse quantitative par filiation isotopique du métabolisme de la valine et de la leucine a permis de préciser le rôle de ces acides aminés et du MCC dans la formation d'isobutanol et d'IAA. Il est apparu que les acides aminés assimilés par la levure pendant la phase de croissance ne contribuent que de façon très limitée à la synthèse d'isobutanol et d'IAA. En effet, seul 2% de l'alcool supérieur produit au cours de l'ensemble de la fermentation (isobutanol, IAA) est issu de l'acide aminé précurseur (valine, leucine). Cette étude a également montré qu'une fraction (de l'ordre de 10%) de la valine est convertie en IAA, via l' α -céto-isovalérate. Cette conversion est unidirectionnelle, la leucine ne conduisant pas à la formation d'isobutanol.

Dans les prochains mois, les données obtenues à l'échelle cellulaire (flux intracellulaires) et les données macroscopiques (vitesse spécifique et dynamique de production des arômes) seront réconciliées à l'aide d'une démarche de modélisation basée sur le modèle explicatif DynamoYeast (Celton *et al.*, 2012), actuellement axé sur le MCC et dans lequel seront incorporées les voies liées au métabolisme de l'azote (ammonium et acides aminés) et des arômes fermentaires.

Références bibliographiques :

Celton, M., Goelzer, A., Camarasa, C., Fromion, V., Dequin, S., 2012. A constraint-based model analysis of the metabolic consequences of increased NADPH oxidation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering* 14, 366–379.

Mouret, J.R., Morakul S., Nicolle, P., Athes, V., Sablayrolles, J.M., 2012. Gas-liquid transfer of aroma compounds during winemaking fermentations. *LWT - Food Science and Technology* doi:10.1016/j.lwt.2012.04.031.

Mots-clés : *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation alcoolique, suivi en ligne, marquage isotopique, alcools supérieurs

P28 - Accumulation et mobilisation des lipides chez la levure *Yarrowia lipolytica*

Jean-Marc Nicaud², Brigitte Treton¹, Thierry Dulermo^{1,2,3}, Athanasios Beopoulos¹,
Ramdane Haddouche^{1,4}

Jean-Marc.Nicaud@grignon.inra.fr

1, INRA, UMR1319 Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France.

2, CNRS, Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

3, adresse actuelle : Institut Microbiologie et Génétique UMR8621 - Université Paris Sud 11 – Orsay

4, adresse actuelle : Oxyrane Belgium NV, Technologiepark 3, 9052 Gent-Zwijnaarde, Belgium

La levure oléagineuse *Yarrowia lipolytica* est capable, selon les conditions de culture, soit de dégrader les lipides par β -oxydation, soit de les stocker sous forme de triglycérides (TAG) dans des compartiments appelés corps lipidiques (CL). En absence de source de carbone, elle est capable de remobiliser les TAG accumulés. Nous avons démontré l'importance de la navette du glycérol-3-phosphate pour l'accumulation de TAG, particulièrement dans des souches affectées aussi pour la dégradation des acides gras (mutant de la β -oxydation). L'inactivation du gène *GUT2* (codant pour la glycerol-3-phosphate dehydrogenase catalysant la conversion du G3P en DHAP) (1) et la surexpression du gène *GPD1* (codant pour la glycerol-3-phosphate dehydrogenase catalysant la réaction inverse) (2) permet une augmentation de l'accumulation de lipides de 25 à 70% selon le génotype de la souche. Les acyl-transférases codées par les gènes *LRO1*, *DGA1*, *DGA2* et *ARE1* et les triglycérides lipases codées par les gènes *TGL3* et *TGL4* sont essentiels pour la synthèse des TAG (3) et pour leur remobilisation (Treton et coll.), respectivement.

Références bibliographiques :

Beopoulos A, Mrozova Z, Thevenieau F, Le Dall M-T, Hapala I, Papanikolaou S, Chardot T, Nicaud J-M, (2008) Control of lipid accumulation in the yeast *Yarrowia lipolytica*. **Applied and Environmental Microbiol.** 74:7779-7789.

Dulermo T, Jean-Marc Nicaud (2011) Involvement of G3P shuttle and β -oxidation pathway into the control of TAG synthesis and lipid accumulation in *Yarrowia lipolytica*. **Metabolic Engineering** (<http://dx.doi.org/10.1016/j.ymben.2011.05.002>).

Beopoulos A, Haddouche R, Kabran P, Dulermo T, Chardot T, Nicaud JM. (2012) Identification and characterization of a DAG acyltransferase belonging to the DGAT1 acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase family in the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. A new insight in storage lipid metabolism of oleaginous yeasts". **Applied Microbiology and Biotechnology** DOI : **10.1007/s00253-011-3506-x**.

Mots-clés : Levure, *Yarrowia lipolytica*, métabolisme lipidique, triglycéride, accumulation lipidique

P29 - Étude de la dégradation des ARNm chez *Lactococcus lactis*

Sébastien Nouaille, Sandrine Laguerre, Laurence Girbal, Pascal Loubière et Muriel Coccagn-Bousquet

sebastien.nouaille@insa-toulouse.fr

LISBP Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes biologiques et des Procédés, INSA, INRA UMR792, CNRS UMR5504, Université de Toulouse. F-31077 Toulouse, France

Dans le domaine de la biologie synthétique, la maîtrise des différentes étapes du processus de l'expression génique, processus complexe multi-régulé, constitue un enjeu majeur. Parmi les différents niveaux de contrôle développés par la cellule, depuis le gène jusqu'à la protéine biologiquement active, la dégradation des ARNm est souvent sous-estimée. Pourtant, en réponse à des perturbations environnementales, il a été montré que les modifications de la population d'ARNm pouvaient être sous contrôle dégradatif (plutôt que transcriptionnel).

Différents paramètres sont susceptibles d'intervenir dans la stabilisation des transcrits dans la cellule. A l'échelle globale par la mesure du stabilome, nous avons montré une corrélation négative entre l'abondance des ARNm et leur stabilité. A l'échelle locale, les régions 5'UTR sont susceptibles de contrôler pour partie la stabilité d'un ARN. Pour quantifier la contribution de ces deux paramètres dans la stabilité des ARNm, une approche de biologie moléculaire rationnelle a été mise en place. Par l'utilisation de souches de *L. lactis* exprimant un transcrit modèle, sous le contrôle de différents promoteurs et associé à différentes 5'UTR, nous avons modulé l'abondance d'un transcrit, indépendamment de sa séquence, ou bien nous avons permuté les 5'UTR, indépendamment de l'abondance. Les répercussions de ces deux paramètres sur la stabilité et sur l'expression de la protéine rapportrice ont été analysées. Les résultats obtenus démontrent clairement que les mécanismes régissant la stabilité des transcrits sont tout aussi complexes que la transcription et doivent être considérés comme un niveau de contrôle cellulaire à part entière.

Mots-clés : ARN, dégradation, stabilome

P30 - Une approche de surexpression systématique pour l'identification de nouveaux gènes impliqués dans le métabolisme lipidique chez *Yarrowia lipolytica*.

Tristan Rossignol¹, Cécile Neuvéglise¹, Jean-Marc Nicaud²

tristan.rossignol@grignon.inra.fr

INRA, UMR 1319 Micalis, F-78352 Jouy-en-Josas, France¹, CNRS, Micalis, F-78352 Jouy-en-Josas, France²

La levure *Yarrowia lipolytica* est capable d'utiliser comme sources de carbone les substrats non miscibles tels que les alcanes, les acides gras et les triglycérides. Elle est également capable d'accumuler, dans certaines conditions, de très grandes quantités de lipides. Ces caractéristiques lui confèrent un fort potentiel biotechnologique, particulièrement dans la production de bio-lipides à haute valeur ajoutée. Malgré les avancées sur la connaissance de son métabolisme lipidique, une compréhension fine des voies de dégradation, de néosynthèse, de transport et de conversion des acides gras est aujourd'hui nécessaire afin de lever les goulots d'étranglement dans la réorientation de ces métabolismes pour la production de bio-lipides.

Le génome de *Y. lipolytica* est entièrement séquencé depuis 2004 mais il n'existe pas à l'heure actuelle de collection de mutants organisés permettant une analyse fonctionnelle systématique. Afin d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans le métabolisme lipidique, nous avons développé une approche haut débit de surexpression systématique des ORFs de *Y. lipolytica*. Nous tirons parti d'une collection de cDNAs clonés dans un vecteur Gateway® comprenant aujourd'hui 2600 ORFs entiers et unique correspondant à environ 40% du génome. Nous avons également développé un vecteur intégratif permettant l'expression de ces cDNAs sous un promoteur fort constitutif et son intégration au locus URA. Ce système de surexpression a été validé avec des gènes codant pour des protéines conférant un phénotype quantifiable, i.e. des protéines fluorescentes et des enzymes de *Y. lipolytica* ou hétérologues bien caractérisés.

La première librairie de surexpression développée est focalisée sur les régulateurs potentiels (facteurs de transcription, kinases et phosphatases) et les gènes potentiellement impliqués dans le métabolisme lipidique. Ce premier orféome partiel qui représente environ 200 gènes disponibles dans notre collection Gateway, est en cours de criblage afin d'identifier des souches présentant des phénotypes particuliers de croissance sur différentes sources de carbones, en particulier les substrats hydrophobes, ou présentant un potentiel d'accumulation de lipides altéré. Cette approche devrait nous permettre d'identifier de nouveaux effecteurs impliqués dans l'assimilation et l'accumulation d'acides gras chez *Y. lipolytica*.

A terme, une librairie de souches de surexpression la plus exhaustive possible sera construite, fournissant ainsi le premier orféome de *Y. lipolytica* permettant des approches de génomique fonctionnelle à l'échelle du génome.

Mots-clés : *Yarrowia lipolytica*, orféome, lipides, métabolisme lipidique, génomique fonctionnelle

P31 - Approche multiple aux niveaux gène, génome et transcriptome pour explorer les mécanismes biologiques de résistance du sol à une maladie des racines de plante

Alain Sarniquet¹, Lebreton L.¹, Daval S.¹, Barret M.², Frey-Klett P.³, Boutin M.¹, Gazengel K.¹,
Guillerm-Erckelboudt A-Y.¹, Marchi M.¹

alain.sarniquet@rennes.inra.fr

1 INRA, UMR 1349 LGEPP, 35653 Le Rheu, France

2 BIOMERIT Research Centre, Department of Microbiology, University College Cork, Cork, Ireland

3 INRA, UMR 1136 IAM, 54280 Champenoux, France

Le piétin-échaudage du blé est une maladie des racines causée par le champignon du sol *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. La réduction de gravité d'une telle maladie dans un sol "résistant" a été associée aux changements de structures génétiques des populations du pathogène (Lebreton *et al.* 2007) et des communautés bactériennes incluant des rhizobactéries antagonistes (Sanguin *et al.* 2008, 2009). Une souche de *Pseudomonas fluorescens*, appartenant à un sous-groupe de rhizobactéries associées à l'étape de réduction de maladie a été sélectionnée pour savoir comment ces rhizobactéries peuvent influencer la dynamique des populations du champignon pathogène, la colonisation et l'infection des racines par le champignon. Les mécanismes biologiques régissant les interactions tripartites entre racines, bactéries et mycélium fongique ont été explorés par une approche transcriptomique multiple basée soit sur le génome bactérien complet, soit sur des gènes candidats du champignon et de la plante. A l'aide de différentes comparaisons appropriées, nous avons démontré l'importance du rôle du champignon dans l'induction de réponses spécifiques de la bactérie relatives à la résistance aux stress oxydatif et impliquant plusieurs systèmes de sécrétion protéique (Barret *et al.* 2009 a,b). La souche bactérienne antagoniste agit par altération de la pathogénèse du champignon et probablement par l'activation des défenses de la plante (Daval *et al.* 2011).

Références bibliographiques :

Barret *et al.* 2009 Molecular Plant-Microbe Interactions. 12:1611-23.

Barret *et al.* 2009 New Phytologist 181: 435-47.

Daval *et al.* 2011 Molecular Plant Pathology 12:839-854.

Lebreton *et al.* 2007 Environmental Microbiology 9:492-9.

Sanguin *et al.* 2008 Soil Biology Biochemistry 40: 1028-1039.

Sanguin *et al.* 2009 New Phytologist. 184:694-707.

Mots-clés : Sol, racines, maladie, bactéries antagonistes, champignon pathogène

Session 3 – Interactions microorganismes-hôtes

Sommaire Session 3 - Interactions microorganismes-hôtes

Conférencier invité – Session 3.....	75
IgA de sécrétion dans le contrôle de l'homéostasie intestinale.....	80
Blaise Corthésy	80
Communications orales – Session 3	81
O13 - Diversité des réponses immunitaires de la glande mammaire lors de mammites induites par différentes souches d' <i>Escherichia coli</i>	82
Perrine Roussel , Adeline Porcherie, Patricia Cuhna, Maryline Ferter-Repérant, Florence Gilbert, Pierre Germon, Pascal Rainard	82
O14 - Anti-inflammatory effects of <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> in a chemically-induced colitis model of conventional and gnotobiotic mice	83
Sylvie Miquel ^{a*} , Rebeca Martin ^{ab*} , F Chain ^a , S Hudault ^a , C Bridonneau ^a , J Lu ^b , J Jury ^b , JJ Gratadoux ^a , S Blugeon ^a , E Verdu ^b , P Bercik ^b , H Sokol ^{acd} , LG Bermúdez-Humarán ^a , M Thomas ^a and P Langella ^a	83
O15 - Le microbiote intestinal peut-il intervenir dans la programmation de la physiologie de l'hôte par la nutrition précoce?	84
F. Morel ^{1,2} , H. Piloquet ¹ , R. Oozeer ³ , A. Oosting ³ , J. Knol ³ , A. Pagniez ¹ , D. Darmaun ¹ , Catherine Michel ¹	84
O16 - Multiplicité des mécanismes d'entrée de <i>Salmonella</i>	85
Agnès Wiedemann ^{1,2} , Manon Rosselin ^{1,2,3} , Lily Mijouin ^{1,2,4} , Elisabeth Bottreau ^{1,2} , Isabelle Virlogeux-Payant ^{1,2} , Olivier Grépinet ^{1,2} , Philippe Velge ^{1,2}	85
O17 - Fungal-bacterial interactions and tree nutrition: deciphering the mechanisms of the mycorrhiza helper effect.	86
Aurélie Deveau & Pascale Frey-Klett.....	86
O18 - Rôle de systèmes « Toxine-Antitoxine » de <i>Sinorhizobium meliloti</i> dans l'interaction symbiotique avec la luzerne	87
Justine Lipuma , Aurélie Kiers, Didier Hérouart et Laurence Dupont.....	87
Posters – Session 3	88
P32 - Deux glutaredoxines de <i>Sinorhizobium meliloti</i> au rôle déterminant pour la fixation d'azote lors de la symbiose avec <i>Medicago truncatula</i>	89
Sofiane Mourad Benyamina ¹ , Fabien Baldacci-Cresp ¹ , Julie Hopkins ¹ , Nicolas Rouhier ² , Jean-Pierre Jacquot ² , Geneviève Alloing ¹ , Alain Puppo ^{1*} and Pierre Frendo ¹	89
P33 - Entrée de <i>Siroplasma citri</i> dans les cellules de son insecte vecteur <i>Circulifer haematoceps</i> : implication des adhésines scarps	90
Sybille Duret ^{1,2} , Laure Béven ^{1,2} , Marie-Pierre Dubrana ^{1,2} , Brigitte Batailler ^{1,2,3} , Colette Saillard ^{1,2} , Joël Renaudin ^{1,2} and Nathalie Arricau-Bouvery ^{1,2}	90
P34 - Yeast as a tool to unravel the function of a bacterial type III effector.....	91
Sabrina Siamer ¹ , Isabelle Guillas ² , Naïma Belgareh-Touzé ³ , Matthieu Gaucher ⁴ , Marie-Noëlle Brisset ⁴ , Caroline Kunz ¹ , Marie-Anne Barny ¹	91

P35 - New insights into <i>Mycoplasma mycoides</i> subspecies <i>mycoides</i> Small Colony secreted exopolysaccharides	92
Clothilde Bertin ^{1,2,*} , Patrice Gaurivaud ² , François Thiaucourt ¹ , Dominique Legrand ³ , Lucia Manso-Silvan ¹ , Corinne Pau-Robelin ⁴ , Josiane Courtois ⁴ , François Poumarat ²	92
P36 - Effets de la toxine bactérienne CDT sur l'ADN et mécanismes cellulaires de signalisation	93
Elisabeth Bezine , Yoann Fedor, Julien Vignard, Elisa Boutet, Bernard Salles & Gladys Mirey	93
P37 - Division of <i>Mycobacterium avium</i> subspecies <i>paratuberculosis</i> into two lineages revealed by the characterization of the adhesin HBHA	94
Louise.H Lefrancois ¹ , Christelle.C Bodier ¹ , Thierry Cochard ¹ , Florence Gilbert ¹ , Sylvie Canepa ² , S Lecher ³ , Dominique Raze ³ , Philippe Lanotte ^{1,4} , Eve Haguenoer ⁴ , Iker.A Sevilla ⁵ , Karen Stevenson ⁶ , Marcel Behr ⁷ , Desmond Collins ⁸ , Camille Locht ³ & Franck Biet ¹	94
P38 - Nouvelle approche dans l'identification de facteurs de virulence chez la bactérie pathogène d'insecte <i>Xenorhabdus</i> : comparaison de souches virulentes et avirulentes.	95
Gaëlle Bisch ¹ , Jean-Claude Ogier ¹ , Sophie Gaudriault ¹	95
P39 - Inhibition of <i>Staphylococcus aureus</i> invasion into mammary epithelial cells by <i>Lactobacillus casei</i> CIRM-BIA 667	96
Damien Bouchard ^{1,2} , Lucie Rault ^{1,2} , Nadia Berkova ^{1,2} , Yves Le Loir ^{1,2} and Sergine Even ^{1,2}	96
P40 - Nitric oxide (NO): a key player in the senescence of <i>Medicago truncatula</i> root nodules	97
Yvan Cam ¹ , Olivier Pierre ² , Eric Boncompagni ² , Didier Hérouart ² , Eliane Meilhoc ¹ and Claude Bruand ¹	97
P41 - Identification d'une souche probiotique ayant un effet protecteur chez la souris contre le virus de la grippe H1N1 PR8 '34	98
Noura Kechaou ¹ , Florian Chain ¹ , Jean Marc Chatel ¹ , Nicolas Bertho ² , Ronan Le Goffic ² , Christophe Chevalier ² , Philippe Langella ¹ and Luis G. Bermudez-Humaran ¹	98
P42 - Oral food-grade lactic acid bacteria recombinant for Elafin restores elastolytic homeostasis in the colon and protects from intestinal inflammation	99
Luis G. Bermúdez-Humarán ^{*1} , J.P. Motta ^{*2,3,4} , C. Deraison ^{2,3,4} , L. Martin ^{2,3,4} , C. Rolland ^{2,3,4} , P. Rousset ^{2,3,4} , K. Chapman ⁵ , P. Kharrat ¹ , J.P. Vinel ^{4,6} , L. Alric ^{4,6} , E. Mas ^{2,3,4,7} , J.M. Sallenave ^{8,9} , P. Langella ^{*1} , N. Vergnolle ^{*2,3,4,5} [Poster présenté par Florian Chain]	99
P43 - Pili present at the surface of a natural <i>Lactococcus lactis</i> strain confer adhesion to intestinal epithelial cells and to mucins.	100
Mickael Meyrand ^{1,2} , Lam Le ^{3,4,5,9,10} , Alain Guillot ^{1,2} , Mélodie Goin ^{1,2} , Naïma Cortes-Perez ^{1,2} , Juliya Armalyte ^{1,2} , Stéphane Chaillou ^{1,2} , Sophie Chat ⁶ , Vincent Dupres ⁷ , Yves Dufrêne ⁷ , Catherine Sapin ⁸ , Germain Trugnan ⁸ , Pascal Loubière ^{3,4,5} , Etienne Dague ^{9,10} , Muriel Mercier-Bonin ^{3,4,5} & Marie-Pierre Chapot-Chartier ^{1,2}	100
P44 - Glycosylation pattern of SRR1, a serine-rich surface protein of <i>Streptococcus agalactiae</i>	101
Thibault Chaze ^{1,2} , Alain Guillot ^{2,3} , Anne-Marie Di Guilmi ⁴ , Shaynoor Dramsi ⁵ , Benoit Valot ⁶ , Patrick Trieu-Cuot ⁵ et Michel-Yves Mistou ^{1,2}	101
P45 - Effects of natural mutations in the ramRA locus on invasiveness of epidemic fluoroquinolone-resistant <i>Salmonella Typhimurium</i> isolates	102
Etienne Giraud ^{1,2} , Sylvie Baucheron ^{1,2} , Isabelle Virlogeux-Payant ^{1,2} , Kunihiro Nishino ³ , Axel Cloeckaert ^{1,2}	102
P46 - La génotoxine colibactine de <i>E. coli</i> stimule la tumorigénèse en impactant la sumoylation des protéines de l'hôte	103
Antony Cougnoux ¹ , Guillaume Dalmasso ¹ , Ruben Martinez ² , Julien Delmas ^{1,3} , Lucie Gibold ^{1,3} , Emmanuel Buc ^{1,3} , Harald Wodrich ² , Denis Pezet ^{1,3} , Arlette Darfeuille-Michaud ¹ et Richard Bonnet ^{1,3}	103

P47 - Des inhibiteurs bloquant l'activité génotoxique de la colibactine en ciblant la peptidase ClbP de l'ilot <i>pks104</i> Antony Cougnoux ¹ , Julien Delmas ^{1,2} , Lucie Gibold ^{1,2} , Guillaume Dalmasso ¹ , Gabriel Cuevas-Ramos ³ , Frederic Robin ^{1,2} , Eric Oswald ³ , Arlette Darfeuille-Michaud ^{1,4} , Fabio Prati ⁵ , Richard Bonnet ^{1,2}	104
P48 - The <i>Streptococcus salivarius</i> SecY2A2-Srr locus promotes bacterial aggregation, biofilm formation and adhesion to human epithelial cell.	105
Benoît Couvigny ^{1*} , Romain Briandet ¹ , Céline Gautier ¹ , Japhète Mbouyou-boungou ¹ , Manfred Rohde ² , Saulius Kulakauskas ¹ , Joel Doré ¹ , Pierre Renault ¹ , Nicolas Lapaque ¹ , Eric Guédon ¹	105
P49 - Réponse de la cicadelle <i>Circulifer haematoceps</i> vecteur de <i>Spiroplasma citri</i> à une infection bactérienne	106
Rémi Eliautout ^{1,2} , Marie-Pierre Dubrana ^{1,2} , Joël Renaudin ^{1,2} , Colette Saillard ^{1,2} et Nathalie Arricau-Bouvery ^{1,2}	106
P50 - Gut microbiota and immunity traits in a swine cohort.	107
P. Lepage ^{a,b} , N. Mach ^{c,d,e} , F. Levenez ^{a,b} , G. Lemonnier ^{c,d,e} , C. Denis ^{c,d,e} , J. Bailly ^e , J.J. Leplat ^{c,d,e} , J. Doré ^{a,b} , Jordi Estellé ^{3,4,5} , C. Rogel-Gaillard ^{c,d,e} , and the SUS_FLORA consortium.	107
P51 - Combination of <i>in silico</i> and proteomic approaches to identify candidate genes responsible for the immunomodulatory properties of <i>Propionibacterium freudenreichii</i>	108
Hélène Falentin ^{1,2} , Caroline Le Marechal ^{1,2} , Mahendra Mariadassou ³ , Valentin Loux ³ , Amal Hammani ³ , Julien Buratti ³ , Julien Jardin ^{1,2} , Valérie Bion ^{1,2} , Stéphanie-Marie Deutsch ^{1,2} , Benoit Foligne ^{4,5,6,7} , Gwenaél Jan ^{1,2}	108
P52 - <i>Phytophthora parasitica</i> biofilm and plant disease outcome	109
Eric Galiana , Marie Larousse, Benoît Industri, Catherine Mura, Michel Ponchet	109
P53 - cAMP signaling in <i>Sinorhizobium meliloti</i> and the control of root infection	110
Amandine Gastebois ^{1,2} , Céline Mathieu-Demazière ^{1,2} , Chang-Fu Tian ^{1,2} , Badrish Soni ^{1,2} , Marie-Anne Carpenne ³ , Véréna Poinot ³ , Catherine Masson ^{1,2} , Jacques Batut ^{1,2} and Anne-Marie Garnerone ^{1,2}	110
P54 - Le microbiote intestinal détermine le développement des désordres métaboliques induits par un régime hyperlipidique	111
Tiphaine Le Roy ^{1,2} , Marta Llopis ^{1,2} , Patricia Lepage ^{1,2} , Aurélie Bruneau ^{1,2} , Sylvie Rabot ^{1,2} , Claudia Bevilacqua ³ , Patrice Martin ³ , Catherine Philippe ^{1,2} , Francine Walker ⁴ , André Bado ⁴ , Gabriel Perlemuter ^{5,6,7} , Anne-Marie Cassard-Doulcier ^{5,6} , Philippe Gérard ^{1,2}	111
P55 - How <i>Bacillus cereus</i> bacteria escape from macrophages ?	112
Abbass Haydar , Didier Lereclus, Nalini Rama Rao	112
P56 - Rôle de BamB et son interaction avec BamA dans la biogenèse de la membrane externe, l'expression des T3SS et la virulence chez <i>Salmonella</i>	113
Genaro Alejandro Hurtado Escobar , Fatémeh Namdari, Nadia Abed, Jérôme Trotereau, Yann Fardini, Etienne Giraud, Philippe Velge et Isabelle Virlogeux-Payant	113
P57 - Influence du microbiote intestinal humain sur la synthèse de shiga toxine par les <i>Escherichia coli</i> entérohémorragiques : caractérisation de molécules inhibitrices	114
Grégory Jubelin ¹ , Charlotte Cordonnier ¹ , Annie Garrivier ¹ , Christine Martin ¹	114
P58 - Phenotypic differentiation between pathogenic and non-pathogenic <i>B. cereus</i> strains: towards the development of new identification and detection tools.	115
Rita Kamar ^{1,2} , Isabelle Jehanno ¹ , Agnès Réjasse ¹ , Michel Gohar ¹ , Didier Lereclus ¹ , Mireille Kallassy Awad ² , Nalini Ramarao ¹ and Vincent Sanchis ¹	115
P59 - Impact de l'âge et du microbiote sur l'expression intestinale des défensines chez les oiseaux.....	116

Anne-Christine Lalmanach ^{1,2} , Jihad Bencherit ^{1,2} , Hélène Marty ^{1,2} , Angéline Trotereau ^{1,2} , Nathalie Chanteloup ^{1,2} , Annie Brée ^{1,2} , Catherine Schouler ^{1,2}	116
P60 - <i>In silico</i> identification and functional characterization of regulatory motifs in <i>Phytophthora parasitica</i> biofilm-expressed genes	117
Marie Larousse , Benoît Industri, Catherine Mura, Michel Ponchet, Franck Panabières & Eric Galiana.....	117
P61 - Caractérisation des glycosides hydrolases appartenant au système d'exploitation du N-acétylglucosamine chez <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	118
Alice Boulanger ¹ , Thomas Dugé de Bernonville ¹ , Laetitia Ligat ² , Stéphanie Cony ² , Brice Roux ¹ , Alexandre Mares ² , Guillaume Déjean ¹ , Pauline Rival ¹ , Claudine Zischek ¹ , Martine Lautier ^{1,3} , Cécile Albenne ² , Elisabeth Jamet ² , Laurent Noël ¹ , Matthieu Arlat ^{1,3} et Emmanuelle Lauber ¹	118
P62 - Étude du potentiel probiotique de <i>Lactobacillus salivarius</i> smxd51, souche isolée de caecum de poulet à activité anti- <i>Campylobacter</i>	119
Soumaya Messaoudi ^{1,2,4} , A. Madi ³ , M. Feuilloley ³ , H. Prévost ^{1,2} , M. Manai ⁴ , N.Connil ³ & X. Doussel ^{1,2}	119
P63 - Regulation of glucose transport and glucose-mediated virulence gene repression in <i>Listeria monocytogenes</i>	120
Eliane Milohanic , Francine Aké, Philippe Joyet and Josef Deutscher	120
P64 - Does Fgap1 regulate Tri gene expression and trichothecene B production in response to oxidative stress in <i>Fusarium graminearum</i> ?	121
Mathilde Montibus , Enric Zehraoui, Nadia Ponts, Florence Forget and Christian Barreau.	121
P65 - Bistabilité et résistance aux peptides antimicrobiens chez la bactérie pathogène d'insectes <i>Photobacterium</i>	122
Annabelle Mouammine , Anne Lanois, Alain Givaudan	122
P66 - Analyse du génome d'une souche bactérienne entomopathogène appartenant à l'espèce <i>Xenorhabdus poinarii</i>	123
Jean-Claude Ogier ¹ , Sylvie Pages ¹ , Patrick Tailliez ¹ , Gaëlle Bisch ¹ , Corine Teyssier ² , Sébastien Carrère ³ , Claudine Medigue ⁴ , Zoé Rouy ⁴ , Alain Givaudan ¹ et Sophie Gaudriault ¹	123
P67 - <i>Listeria monocytogenes</i> -mediated epigenetic effects: a DNA methylation component?	124
Anupam Paliwal ¹ , Alice Lebreton ¹ , Guillaume Soubigou ² , Jean-Yves Coppée ² , Pascale Cossart ¹ and Hélène Bierre ¹	124
P68 - Molecular and phenotypic comparison of two <i>Staphylococcus aureus</i> strains associated to severe or mild mastitis in cows	125
Vincent Peton ^{1,2} , Damien Bouchard ^{1,2} , Sintia Almeida ^{1,2} , Julien Jardin ^{1,2} , Caroline Le Maréchal ^{1,2} , Anderson Miyoshi ³ , Vasco Azevedo ³ , Nadia Berkova ^{1,2} , Lucie Rault ^{1,2} , Patrice François ⁴ , Jacques Schrenzel ⁴ , David Hernandez ⁴ , Sergine Even ^{1,2} and Yves Le Loir ^{1,2}	125
P69 - <i>Staphylococcus aureus</i> alters cell cycle in human and bovine epithelial cells.....	126
Alekseeva Ludmila ¹ , Rault Lucie ^{2,3} , Vincent Peton ^{2,3} , Almeida Sintia ^{2,3,4} , Cousin Fabien J. ^{2,3} , Legembre Patrick ⁵ , Edmond Valérie ⁵ , Azevedo Vasco ⁴ , <i>Miyoshi Anderson</i> ⁴ , Even Sergine ^{2,3} , Taieb Frédéric ⁶ , Arlot-Bonnemains Yannick ⁷ , Le Loir Yves ^{2,3} , Berkova Nadia ^{2,3}	126
P70 - Caractérisation de cycles épidémiologiques de <i>Borrelia burgdorferi</i> sl par approche moléculaire....	127
Maude Pithon ¹ , Maxime Bisseux ¹ , Maud Marsot ¹ , Sébastien Masseglia ¹ , Jean-Louis Chapuis ² , Gwenaél Vourc'h ¹ , Xavier Bailly ¹	127
P71 - Revisiting free-living and symbiotic transcriptomes of <i>Sinorhizobium meliloti</i> by RNA-seq and laser micro-dissection analyses.....	128

Laurent Sauviac ¹ , Brice Roux ¹ , Erika Sallet ¹ , Nathalie Rodde ¹ , Françoise Jardinaud ¹ , Delphine Capela ¹ , Sandra Moreau ¹ , Olivier Catrice ¹ , Ton Timmers ¹ , Thomas Faraut ² , Fernanda de Carvalho-Niebel ¹ , Frédéric Debellé ¹ , Thomas Schiex ³ , Jérôme Gouzy ¹ , Pascal Gamas ¹ and Claude Bruand ¹	128
P72 - New mechanisms for "host iron" acquisition in <i>Bacillus cereus</i>	129
Diego Segond ¹ , E.Abi Khalil ¹ , C.Buisson ¹ , F.Bou Abdallah ² , M.Kallassy ³ , D.Lereclus ¹ , C.Nielsen-LeRoux ¹	129
P73 - Identification of <i>Enterococcus faecalis</i> genes involved in the adaptation to the gastro-intestinal tract	130
Lionel Rigottier-Gois ^{1,2} , Clément Madec ^{1,2} , Albertas Navickas ^{1,2} , Elodie Akary-Lepage ^{1,2} , Renata Matos ^{1,2} , Pascale Serror ^{1,2}	130
P74 - HpaP, a chaperone-like protein with a key role in the virulence of <i>Ralstonia solanacearum</i> , interacts with and regulates secretion of the T3E PopP1	131
D. Lohou ¹ , Marie Turner ¹ , C.Péanne ¹ , A.C. Cazalé-Noël ¹ , S. Genin ¹ and F. Vailleau ¹	131
P75 - Le potentiel probiotique anti-inflammatoire de <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	132
Hela El Kafsi ¹ , Johan Binesse ¹ , Clarissa Santos Rocha ¹ , Valentin Loux ² , Emmanuelle Maguin ¹ & Maarten van de Guchte ¹	132
P76 - Functional studies of the predicted surface proteome of Gram-positive bacteria from the human gastrointestinal tract.....	133
Dragana Dobrijevic, Gaetana Di Liberto, Hervé Blottière, Emmanuelle Maguin & Maarten van de Guchte	133
P77 - Use of genome-wide analysis for deciphering the role of master regulators during the early stages of <i>Arabidopsis</i> infection by the enterobacterium <i>Dickeya dadantii</i>	134
E. Chapelle, B. Alunni, J. Pédrón, P. Malfatti, L. Solier et Frédérique Van Gijsegem	134
P78 - Impact de l'IL-17RA sur le recrutement des neutrophiles suite à l'infection pulmonaire par mycobactéries	135
Robin Lombard, Emilie Doz, Florence Carreras, Fanny Bauchet, Dominique Buzoni-Gatel & Nathalie Winter	135

Conférencier invité – Session 3

IgA de sécrétion dans le contrôle de l'homéostasie intestinale

Blaise Corthésy

Blaise.Corthesy@chuv.ch

Immunologie et allergie, CHUV-Lausanne, Suisse

Les surfaces muqueuses de l'intestin sont exposées aux nombreuses agressions de l'environnement extérieur riche en agents infectieux telles que bactéries, toxines, virus, et représentent un site d'entrée privilégié dans l'organisme. Les mêmes surfaces doivent aussi être capable de laisser librement diffuser les composés issus de notre alimentation, sans engendrer des réactions agressives qui pourraient conduire à un processus inflammatoire non-désiré de type allergie. Finalement, au sein du système digestif, l'organisme doit aussi être en mesure de vivre en symbiose avec les bactéries commensales, et donc de savoir discriminer entre potentiellement pathogène et fonctionnellement utile.

La production locale d'anticorps spécifiques des muqueuses, les IgA de sécrétion (SIgA), représente un aspect crucial dans le processus de protection. La neutralisation par les SIgA spécifiques de pathogènes conduit à leur neutralisation et prévient l'interaction avec les surfaces muqueuses par un mécanisme appelé exclusion immune.

Les SIgA de faible affinité qui constituent une proportion importante des SIgA produites par les muqueuses, s'associent aux bactéries de la flore commensale et permettent à cette dernière de ne pas être perçue comme dangereuse par le système immunitaire des muqueuses. Cela contribue à expliquer pourquoi le nombre énorme de bactéries commensales résidant dans l'intestin et le colon est toléré par l'organisme sans induction de mécanismes inflammatoires.

La fonctionnalité des SIgA dans ces processus aux issues diverses sera discutée dans le cadre de cette présentation.

Communications orales – Session 3

(par ordre chronologique des présentations)

O13 - Diversité des réponses immunitaires de la glande mammaire lors de mammites induites par différentes souches d'*Escherichia coli*.

Perrine Roussel, Adeline Porcherie, Patricia Cuhna, Maryline Ferter-Repérant, Florence Gilbert, Pierre Germon, Pascal Rainard

Perrine.Roussel@tours.inra.fr

Comm orale
Doctorant

INRA, UMR 1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly, France

En France et en Europe, les mammites constituent la première source de pertes financières des cheptels bovins laitiers et allaitants. Il s'agit d'une inflammation de la glande mammaire, essentiellement d'origine bactérienne.

Les infections induites par *Escherichia coli* (*E. coli*) s'accompagnent de signes cliniques de gravité variable, et sont en général brèves, du fait d'une clairance rapide du pathogène. Néanmoins dans certains cas, la bactérie entraîne une réaction systémique chez la vache, pouvant altérer la fonctionnalité de la mamelle voire induire la mort de l'animal.

Ainsi la présente étude vise-t-elle à caractériser et à comprendre comment des souches colibacillaires peuvent induire des réponses de la glande mammaire diverses.

Les résultats portant sur quatre souches d'*E. coli* isolées de cas de mammites tendent à montrer que les réponses inflammatoires déclenchées par ces souches sont très différentes en termes de recrutement cellulaire et de production de cytokines pro-inflammatoires, de chimiokines et de peptides antimicrobiens. Des caractéristiques intrinsèques telles que la résistance au sérum bovin, une capacité accrue de multiplication dans le lait et un faible pouvoir inducteur de réponse immunitaire des cellules épithéliales mammaires pourraient expliquer comment des souches d'*E. coli* sont capables d'induire des mammites aiguës et suraiguës. Au contraire, des souches hautement sensibles au sérum, se multipliant faiblement dans le lait et déclenchant des réponses inflammatoires fortes seraient rapidement éliminées de la glande mammaire, sans induction de signe clinique.

Cette étude souligne ainsi l'importance de considérer les mammites en fonction des signes cliniques observés, et en regard des souches bactériennes impliquées.

Références bibliographiques :

- Burvenich C, Van Merris V, Mehrzad J, Diez-Fraile A, Duchateau L. *Vet Res* 2003, **34**(5):521-564.
- Dogan B, Klaessig S, Rishniw M, Almeida RA, Oliver SP, Simpson K, Schukken YH. *Vet Microbiol* 2006, **116**(4):270-282.
- Elazar S, Gonen E, Livneh-Kol A, Rosenshine I, Shpigel NY. *Vet Res* 2010, **41**(4):53.
- Gunther J, Koczan D, Yang W, Nurnberg G, Repsilber D, Schuberth HJ, Park Z, Maqbool N, Molenaar A, Seyfert HM. *Vet Res* 2009, **40**(4):31.
- Mitterhuemer S, Petzl W, Krebs S, Mehne D, Klanner A, Wolf E, Zerbe H, Blum H. *BMC Genomics* 2010, **11**:138.
- Notebaert S, Demon D, Vanden Berghe T, Vandenabeele P, Meyer E. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2008, **31**(6):551-565.
- Passey S, Bradley A, Mellor H. *Vet Microbiol* 2008, **130**(1-2):151-164.
- Rainard P, Riollot C. *Vet Res* 2006, **37**(3):369-400.
- Schukken YH, Gunther J, Fitzpatrick J, Fontaine MC, Goetze L, Holst O, Leigh J, Petzl W, Schuberth HJ, Sipka A et al. *Vet Immunol Immunopathol* 2011, **144**(3-4):270-289.
- Shpigel NY, Elazar S, Rosenshine I. *Curr Opin Microbiol* 2008, **11**(1):60-65.
- Suojala L, Pohjanvirta T, Simojoki H, Myllyniemi AL, Pitkala A, Pelkonen S, Pyorala S. *Vet Microbiol* 2011, **147**(3-4):383-388.
- Vangroenweghe F, Lamote I, Burvenich C. *Domest Anim Endocrinol* 2005, **29**(2):283-293.

Mots clés : *Escherichia coli*, mammite, glande mammaire, réponse inflammatoire

O14 - Anti-inflammatory effects of *Faecalibacterium prausnitzii* in a chemically-induced colitis model of conventional and gnotobiotic mice

Sylvie Miquel^{a*}, Rebeca Martin^{ab*}, F Chain^a, S Hudault^a, C Bridonneau^a, J Lu^b, J Jury^b, JJ Gratadoux^a, S Blugeon^a, E Verdu^b, P Bercik^b, H Sokol^{acd}, LG Bermúdez-Humarán^a, M Thomas^a and P Langella^a

sylvie.miquel@jouy.inra.fr

^a INRA, UMR1319 Micalis, Commensal and Probiotics-Host Interactions Laboratory, Jouy-en-Josas, France

^b Farncombe Family Digestive Health Research Institute. McMaster University. 1200 Main St West, H.Sc. 3N6. Hamilton, Ontario, Canada

^c ERL INSERM U 1057/UMR7203, Faculté de Médecine Saint-Antoine, Université Pierre et Marie Curie (UPMC), Paris 6, France

^d Service de Gastroentérologie, Hôpital Saint-Antoine, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris (APHP), Paris, France

* equal contributions

Diminished prevalence and abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* has been reported in intestinal disorders as inflammatory bowel disease (IBD)¹ and irritable bowel syndrome (IBS)². *F. prausnitzii* is the first anti-inflammatory commensal bacterium identified on the basis of human clinical data and validated in acute high-dose TNBS colitis model³. Here, chronic low-grade inflammation, as observed in IBS patients, was first induced in conventional mice by performing two cycles of low-dose DNBS challenge. No significant difference was observed in classic inflammation parameters. However, serotonin levels, gut permeability and cytokines profiles were improved with in mice treated with *F. prausnitzii* or its supernatant. We then designed a chronic IBD model by two cycles of high-dose DNBS-induced colitis. Interestingly, both *F. prausnitzii* and its supernatant had significant protective effects after colitis reactivation.

To decipher the mechanisms involved in these anti-inflammatory effects, *F. prausnitzii* monoxenic mice were obtained using both intragastric and intrarectal administrations of *F. prausnitzii* (but only in 19% of treated mice). *Escherichia coli*, also involved in IBD dysbiosis, was co-inoculated with *F. prausnitzii* as a companion strain. After an adaptation period, a stable *F. prausnitzii* population level slightly lower than *E. coli* was observed. *E. coli*/*F. prausnitzii* dioxenic mice and *E. coli* monoxenic mice were challenged by TNBS to induce acute colitis. In *E. coli*/*F. prausnitzii* dioxenic mice Disease Activity Index (DAI), histological scores, MPO activity and cytokine responses were significantly decreased. The highest DAI decrease was obtained in mice with the highest *F. prausnitzii* implantation (>10⁸ CFU/g of faeces).

These results confirm the high potential of *F. prausnitzii* as a potential probiotic for both IBD and IBS patients.

Références bibliographiques :

1. Sokol H et al. IBD 2009
2. Rajilic-Stojanovic R et al. Gastroenterology 2011
3. Sokol, H et al. PNAS USA. 2008

Mots-clés : *Faecalibacterium prausnitzii*; gnotobiotic mice; anti-inflammatory effects

O15 - Le microbiote intestinal peut-il intervenir dans la programmation de la physiologie de l'hôte par la nutrition précoce?

F. Morel^{1,2}, H. Piloquet¹, R. Oozeer³, A. Oosting³, J. Knol³, A. Pagniez¹, D. Darmaun¹, **Catherine Michel**¹
catherine.michel@univ-nantes.fr ; michel@nantes.inra.fr

¹ UMR PHAN, INRA/Université de Nantes - Place Alexis Ricordeau – 44093 Nantes Cedex 1 – France;

² BLEDINA - 383, rue Philippe Héron - 69 400 Villefranche Sur Saone – France ;

³ Danone Research Centre for Specialised Nutrition - PO box 7500 - 6700 CA Wageningen - The Netherlands.

Un nombre croissant d'observations suggère que la nutrition précoce affecte à long terme la santé des adultes. Identifier les mécanismes qui sous-tendent cette empreinte nutritionnelle permettrait de nouvelles stratégies de prévention des maladies. Le microbiote intestinal pourrait être un acteur clé dans la mesure où i) il interagit avec la physiologie de son hôte [1,2], ii) sa constitution postnatale peut être modulée par l'alimentation [ex. 3,4], et iii) bien que ceci soit controversé [5,6], sa structuration initiale est supposée influencer la composition du microbiote intestinal adulte. Pour étayer l'hypothèse de la possible contribution du microbiote intestinal comme relai de la nutrition précoce, cette étude, menée chez le rat, visait à déterminer si la modification précoce du microbiote intestinal programme effectivement la composition du microbiote chez l'animal adulte.

Des rats non sevrés ont été supplémentés entre leur 5^e et 15^e jour de vie, par gavage oral à l'aide de solutions d'oligosides (FOS, GOS/lcF ou AOS, 3.2 g.kg⁻¹ de poids vif) ou de solution contrôle. Les rats ont été sevrés au 21^e jour de vie puis nourris avec un régime de croissance jusqu'à J130. La composition du microbiote caecocolique a été caractérisée à J15 et J130 par RT-qPCR et pyroséquençage.

A J15, les différents oligosaccharides ont effectivement affecté la composition du microbiote caecocolique : les niveaux de population de différents genres constitutifs des *Firmicutes* étaient diminués chez tous les animaux supplémentés en OS alors que les bifidobactéries étaient spécifiquement augmentées par FOS et GOS/lcF. A J130 le microbiote était affecté uniquement chez les animaux qui avaient reçu le mélange GOS/lcF avant sevrage : la diversité était accrue alors que les niveaux de population des bactéries apparentées à *Roseburia intestinalis* et aux *Erysipelotrichaceae* étaient diminués.

Un impact durable des modifications initiales du microbiote intestinal n'a été observé que dans le cas particulier du mélange GOS/lcF. De façon intéressante, les modifications constatées à l'âge adulte ne reflétaient pas les modifications initialement observées, suggérant que le formatage du microbiote intestinal est indirect (*via* la programmation de l'environnement intestinal ou celle du dialogue inter-bactérien). Une programmation du microbiote intestinal est donc possible, au moins pour certaines conditions. Par conséquent, le microbiote peut constituer une « mémoire » de la nutrition précoce et participer par ce biais au phénomène d'empreinte nutritionnelle.

Références bibliographiques :

- [1]. Hooper, LV. & Gordon, JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* **292**, 1115-1118. (2001).
- [2]. Leser, TD. & Molbak, L. (2009) Better living through microbial action: the benefits of the mammalian gastrointestinal microbiota on the host. *Environ Microbiol* **11**, 2194-206. (2009).
- [3]. Rinne, M., Kalliomaki, M., Salminen, S. *et al.* Probiotic intervention in the first months of life: short-term effects on gastrointestinal symptoms and long-term effects on gut microbiota. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **43**, 200-205. (2006).
- [4]. Salvini, F., Riva, E., Salvatici, E. *et al.* A specific prebiotic mixture added to starting infant formula has long-lasting bifidogenic effects. *J Nutr* **141**, 1335-1339. (2011).
- [5]. Mackie, RI., Sghir, A. & Gaskins, HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* **69**, 1035S-1045S. (1999).
- [6]. Tannock GW (2007) What immunologists should know about bacterial communities of the human bowel. *Semin Immunol* **19**, 94-105.

Mots-clés : microbiote intestinal, programmation nutritionnelle, oligosides

016 - Multiplicité des mécanismes d'entrée de *Salmonella*.

Agnès Wiedemann^{1,2}, Manon Rosselin^{1,2,3}, Lily Mijouin^{1,2,4}, Elisabeth Bottreau^{1,2}, Isabelle Virlogeux-Payant^{1,2}, Olivier Grépinet^{1,2}, Philippe Velge^{1,2}.

Agnès.Wiedemann@tours.inra.fr; tel : +33 247427870

1-INRA, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly, France.

2-Université François Rabelais de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37000 Tours, France

3-Adresse actuelle: Department of Microbiology and Immunology, F. Edward Hébert School of Medicine, Uniformed Services University of the Health Sciences, Bethesda, Maryland, USA.

4-Adresse actuelle: Laboratoire de Microbiologie, Signaux et Micro-environnement, F-27000 Evreux, France.

Salmonella est une bactérie entéro-invasive responsable de toxi-infections alimentaires collectives. Pour envahir les cellules hôtes, cette bactérie a développé différents mécanismes qui lui permettent d'induire sa propre internalisation dans les cellules non-phagocytaires¹. Encore récemment, un seul système d'entrée était décrit pour *Salmonella*. Cette voie d'entrée requiert un système de sécrétion de type III (T3SS-1) qui induit un mécanisme d'entrée de type Trigger. Cependant, nous avons, ainsi que d'autres équipes, montré que *Salmonella* peut envahir les cellules par d'autres voies impliquant les invasines, Rck² et PagN³. Nous avons ainsi montré le rôle de Rck en tant qu'invasine chez *Salmonella*, et démontré par différentes approches que Rck induit un mécanisme d'invasion de type Zipper². L'étude de la cascade de signalisation cellulaire induite par Rck nous a conduit à l'identification de son récepteur. L'analyse du pouvoir d'invasion d'un mutant *Salmonella* cultivé dans des conditions où il est incapable d'exprimer les facteurs d'invasion connus : T3SS-1, Rck et PagN montre l'existence d'autre facteurs d'entrée encore non identifiés chez *Salmonella* qui semblent induire une invasion de type Zipper et de type Trigger⁴. L'ensemble de ces données changent complètement notre vision des mécanismes d'invasion de *Salmonella* et font de *Salmonella*, la première bactérie capable d'envahir les cellules via un mécanisme de type Trigger, dépendant au moins du T3SS-1, et un mécanisme de type Zipper, dépendant au moins de Rck et révèlent la complexité des mécanismes d'invasion de *Salmonella*. Les questions futures concernent les conditions d'expression de ces différents facteurs d'entrée et leurs rôles respectifs dans les différentes pathologies induites par les différents sérotypes de *Salmonella*.

Références bibliographiques :

- 1.Velge, P., et al. (2012) *Microbiology Open* in press
- 2.Rosselin, M., et al. (2010) *Cell Res.* 20: 647-664.
- 3.Lambert, M.A. and Smith, S.G. (2008) *BMC Microbiol.* 8:142-153.
- 4.Rosselin, M., et al. (2011) *Microbiol.* 157: 839 – 847.

Mots clés : *Salmonella*, invasion, signalisation cellulaire, Zipper, Trigger.

O17 - Fungal-bacterial interactions and tree nutrition: deciphering the mechanisms of the mycorrhiza helper effect.

Aurélie Deveau & Pascale Frey-Klett

deveau@nancy.inra.fr

INRA, UMR1136 IAM, Nancy, France

In natural environments mycorrhizal fungi are surrounded by and shape complex bacterial communities. From these communities, Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB) promote the formation and/or the functioning of the ectomycorrhizal symbiosis between tree roots and ectomycorrhizal fungi.

Despite the high relevance of MHB for forestry and for sustainable tree production in tree nurseries, little is known on the mechanisms of the interaction between ectomycorrhizal fungi and helper bacteria. Using the model organisms *Laccaria bicolor* S238N, an ectomycorrhizal fungal strain, and *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8, a MHB strain, we combined genomic, transcriptomic and mutagenesis approaches to gain understanding of the helper effect.

Our results suggest that this fungal-bacterial interaction rely on a combination of mechanisms involving trophic and physical interactions. The two microorganisms cooperate for nutrients, the fungus providing a “private” carbon source to the bacterium (trehalose) and the bacterium complementing fungal deficiency for thiamine. The interaction also relies on more specific cell-cell interactions involving type III secretion system and LPS/lectin binding mechanisms.

Interestingly, it is likely that some of the functions suspected to be involved in the helper effect have been acquired from other bacteria through horizontal gene transfer, providing a combination of properties that lead to the helper effect.

Mots-clés : Fungal-bacterial interaction, mycorrhiza, type III secretion system

018 - Rôle de systèmes « Toxine-Antitoxine » de *Sinorhizobium meliloti* dans l'interaction symbiotique avec la luzerne

Justine Lipuma, Aurélie Kiers, Didier Hérouart et Laurence Dupont

justine.lipuma@sophia.inra.fr

Comm orale
Doctorant

Equipe Symbiose - Institut Sophia Agrobiotech (Isa) UMR Inra 1355-Cnrs 7254

Université Nice Sophia Antipolis - 400 route des Chappes - BP 167 - 06903 Sophia Antipolis Cedex - France

La symbiose fixatrice d'azote entre la légumineuse, *Medicago sativa* et la bactérie, *Sinorhizobium meliloti* induit le développement d'un nouvel organe racinaire, la nodosité. Dans cet organe, la bactérie se différencie en bactéroïde fixateur d'azote fournissant à la plante une source d'azote. En retour, la plante fournit à la bactérie des substrats carbonés. Cependant, cette nodosité présente une sénescence prématurée par rapport à d'autres organes de la plante, qui débute par la mort des bactéroïdes, suivie de celle des cellules végétales infectées. Ceci conduit à l'arrêt de la fixation d'azote. Afin de mieux comprendre le rôle du partenaire bactérien dans cette sénescence nodositaire, nous nous sommes intéressés aux systèmes « Toxine-Antitoxine » (TA).

Chez les bactéries pathogènes animales, certains systèmes TA sont décrits comme intervenant dans la survie des bactéries dans la cellule hôte ainsi que dans l'adaptation à différents stress. Un système TA est composé d'une antitoxine labile et d'une toxine stable qui, lors d'un stress, agit comme régulateur de la traduction.

Parmi les 12 systèmes TA putatifs de *S. meliloti*, nous avons étudié trois systèmes appartenant à la famille VapBC (*Virulence-Associated Protein*). L'expression des trois opérons correspondants a été étudiée en culture pure dans différentes conditions de stress et *in planta* lors de l'interaction symbiotique avec la luzerne. Nous avons montré que, lors de l'interaction symbiotique, le mutant bactérien affecté dans l'antitoxine VapB5 présente une activité fixatrice d'azote 30% supérieure à une souche sauvage, avec un rendement végétal supérieur de 50%. Le rôle des « Toxines » dans l'interaction symbiotique sera discuté.

Mots-clés : Toxine-Antitoxine, VapBC, symbiose fixatrice d'azote

Posters – Session 3

(par ordre alphabétique des auteurs-présentateurs)

P32 - Deux glutaredoxines de *Sinorhizobium meliloti* au rôle déterminant pour la fixation d'azote lors de la symbiose avec *Medicago truncatula*

Sofiane Mourad Benyamina¹, Fabien Baldacci-Cresp¹, Julie Hopkins¹, Nicolas Rouhier², Jean-Pierre Jacquot², **Geneviève Alloing¹**, Alain Puppo^{1*} and Pierre Frendo¹

alloing@unice.fr

¹UMR "Interactions Biotiques et Santé Végétale" INRA 1301-CNRS 6243 - Université de Nice-Sophia Antipolis, 400 routes des Chappes, 06903 Sophia-Antipolis cedex, France.

²UMR INRA UHP 1136, Interactions Arbres Microorganismes, IFR 110 EFABA, Université de Lorraine, BP 70239, 54506 Vandoeuvre cedex, France.

³Laboratoire de Biotechnologie des Rhizobiums et Amélioration des Plantes, Département de Biotechnologie, Université d'Oran Es Senia, Oran, Algeria.

⁴UMR "Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes" IRD – Université de Montpellier, 34398 Montpellier cedex 5, France.

Tous les organismes aérobies sont exposés aux Espèces Actives de l'oxygène (EAO), qui peuvent causer des dégâts irréversibles aux composants de la cellule s'ils ne sont pas rapidement détoxiqués mais sont également impliqués dans des processus de signalisation. L'état redox cellulaire joue ainsi un rôle important dans l'établissement et le développement des interactions plantes-microorganismes, notamment lors de la symbiose fixatrice d'azote légumineuse - rhizobium. En particulier, l'aptitude du partenaire bactérien à synthétiser le glutathion (GSH), une molécule antioxydante, est déterminante pour l'efficacité de cette symbiose. Afin de préciser la fonction du GSH, nous nous sommes intéressés au rôle potentiel des glutaredoxines de *Sinorhizobium meliloti* dans l'interaction symbiotique avec la plante-hôte *Medicago truncatula*; les glutaredoxines sont des oxydo-reductases ubiquitaires utilisant le GSH comme cofacteur pour catalyser la réduction des ponts disulfures. L'isolement de bactéries mutées dans l'un des 3 gènes de glutaredoxines (*grx1*, *grx2*, *grx3*) a permis de révéler le rôle crucial des glutaredoxines Grx1 et Grx2. En effet, chacune de ces protéines est nécessaire pour une croissance optimale de la bactérie, Grx1 étant impliquée dans la déglutathionylation des protéines et Grx2 dans le métabolisme du fer. De plus, l'efficacité de la fixation d'azote est affectée chez des plantes infectées par les mutants *grx1* ou *grx2* et l'inactivation de *grx1* affecte spécifiquement le processus de différenciation de la bactérie en bactéroïde fixateur d'azote. Ainsi, ces 2 Grxs de *S. meliloti* sont essentielles au processus de fixation d'azote et ont des fonctions différentes, dans la différenciation bactérienne et dans l'homéostasie du fer.

Mots-clés : glutaredoxines; symbiose fixatrice d'azote

P33 - Entrée de *Spiroplasma citri* dans les cellules de son insecte vecteur *Circulifer haematoceps* : implication des adhésines scarps

Sybille Duret^{1,2}, Laure Béven^{1,2}, Marie-Pierre Dubrana^{1,2}, Brigitte Batailler^{1,2,3}, Colette Saillard^{1,2}, Joël Renaudin^{1,2} and **Nathalie Arricau-Bouvery**^{1,2}

nbouvery@bordeaux.inra.fr

1, INRA, UMR 1332 Biologie du Fruit et Pathologie, F-33140 Villenave d'Ornon, France.

2, Univ. Bordeaux, UMR 1332 Biologie du Fruit et Pathologie, F-33140 Villenave d'Ornon, France.

3, Bordeaux Imaging Center, Pôle Imagerie du Végétal, INRA, Centre de Bordeaux-Aquitaine, 33883 Villenave d'Ornon, France

Spiroplasma citri est une bactérie sans paroi qui se multiplie dans le phloème des plantes dans lequel elle est introduite par la cicadelle *Circulifer haematoceps*. Cette transmission nécessite le franchissement de l'épithélium intestinal et l'invasion des glandes salivaires par endocytose. L'infection de la lignée cellulaire Ciha-1, issue de l'insecte vecteur *C. haematoceps* (1), par *S. citri* GII3 (wt) et par le mutant G/6 dépourvu des plasmides codant les protéines ScARPs montre que le mutant G/6 est affecté dans sa capacité à adhérer et à entrer dans les cellules, suggérant une implication des ScARPs dans les interactions spiroplasmes-hôtes. Des expériences de partition au triton X-114, de protéolyse ménagée et des tests d'agglutination montrent que les domaines répétés (Rep) de la partie N-terminale des ScARPs sont exposés à la surface des spiroplasmes. Les tests d'inhibition réalisés avec des anticorps anti-Rep3d dirigés contre les domaines Rep de la ScARP3d, et de compétition avec la protéine recombinante Rep3d montrent que les ScARPs sont impliquées à la fois dans l'adhésion et l'entrée des spiroplasmes dans les cellules Ciha-1. Ces cellules endocytent les billes de latex recouvertes de Rep3d via la polymérisation de l'actine. Toutefois l'adhésion et l'entrée des spiroplasmes GII3, et dans une moindre mesure pour le G/6, sont augmentées en présence de cytochalasine D, un dépolymérisant les filaments d'actine. L'ensemble de ces résultats suggèrent que les ScARPs, et la ScARP3d en particulier, jouent un rôle dans les interactions du spiroplasma avec les cellules d'insecte lors de la transmission.

Références bibliographiques :

(1) Duret, S., B. Batailler, J. L. Danet, L. Béven, J. Renaudin, and N. Arricau-Bouvery. 2010. Infection of the *Circulifer haematoceps* cell line Ciha-1 by *Spiroplasma citri*: the non insect-transmissible strain 44 is impaired in invasion. *Microbiology* 156:1097-1107.

Mots-clés : *Spiroplasma citri* - Transmission par insecte - Infection de cellules en culture - Mollicute pathogène de plante

P34 - Yeast as a tool to unravel the function of a bacterial type III effector.

Sabrina Siamer¹, Isabelle Guillas², Naïma Belgareh-Touzé³, Matthieu Gaucher⁴, Marie-Noëlle Brisset⁴,
Caroline Kunz¹, **Marie-Anne Barny**¹

barny@agroparistech.fr

¹ Laboratoire des Interactions Plantes-Pathogènes UMR217 INRA/AgroParisTech/UPMC, 16 rue Claude Bernard 75231, Cedex 05 Paris, France

² UPMC Univ Paris 06, UR 5, Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Moléculaire des Plantes, F-75252, Paris, France.

³ Institut de Biologie Physico-Chimique, FRE 3354 CNRS/UPMC, Université Paris 06, Paris, France

⁴ Institut de Recherche en Horticulture et Semences, UMR INRA/Agrocampus Ouest/Université d'Angers, F-49071 Angers, France.

Erwinia amylovora is responsible for fire blight, a necrotic disease of apple and pears. *E. amylovora* relies on a type III secretion system T3SS and on a single injected effector DspA/E to induce disease on host plants. DspA/E belongs to the AvrE family of type III effector which are important to promote bacterial growth following infection and to suppress plant defense responses. Their mode of action in plant cells remains unknown. We studied the physiological effects induced by *dspA/E* expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Expression of *dspA/E* in the yeast inhibits cell growth. This growth inhibition is associated with perturbations of the actin cytoskeleton and endocytosis. We then, screened the EUROSCARF *S. cerevisiae* library for mutants suppressor of DspA/E-induced yeast toxicity and this allowed us to unravel the mode of action of DspA/E. Results obtained on yeast were, then, confirmed on plant. Altogether, this work illustrates that *S. cerevisiae* is an interesting eukaryotic model to understand the mechanism of action of bacterial effectors.

Références bibliographiques :

Siamer, S., Patrit, O., Fagard, M., Belgareh-Touzé, N., and Barny, M.-A. (2011). Expressing the *Erwinia amylovora* type III effector DspA/E in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* strongly alters cellular trafficking. FEBS Open Bio 1, 23–28.

Mots-clés : *Erwinia amylovora*, fire blight, type III secretion system, DspA/E, yeast, cellular trafficking

P35 - New insights into *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* Small Colony secreted exopolysaccharides

Clothilde Bertin^{1,2,*}, Patrice Gaurivaud², François Thiaucourt¹,
Dominique Legrand³, Lucia Manso-Silvan¹, Corinne Pau-Robelin⁴,
Josiane Courtois⁴, François Poumarat²

Poster
Doctorant

clothilde.bertin@cirad.fr

1- CIRAD, UMR CMAEE, F-34398 Montpellier, France

2- Anses, Laboratoire de Lyon, UMR « Mycoplasmoses des ruminants », 31 avenue Tony Garnier, 69364 Lyon cedex

3- UMR « Mycoplasmoses des ruminants », université Lyon 1, 69003 VetAgro Sup-Campus Vétérinaire de Lyon, 69280 Marcy-l'Etoile

4- Laboratoire des Polysaccharides Microbiens et Végétaux, IUT, Département de Génie Biologique, Université de Picardie Jules Verne, Avenue des Facultés, Le Bailly, 80025 Amiens Cedex

*Corresponding author

Mycoplasma mycoides subsp. *mycoides* Small Colony (MmmSC) is the causal agent of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP), a severe contagious infection inducing lesions of pleurisy and pneumonia in cattle. This disease is responsible for major losses in African livestock and the European 90's re-emerging outbreaks demonstrated that CBPP was still a threat for developed countries. Deciphering the MmmSC genome did not reveal any bacterial virulence factor, such as toxins, and there are very few hypothesis concerning MmmSC virulence mechanisms. Nevertheless, a thick polysaccharide layer (galactan) surrounding MmmSC cells, often referred as a pseudo-capsule, was suspected to be implicated in pathogenicity. This galactan is reported to be easily shedded by MmmSC and found in the blood of infected cattle.

To study *in vitro* secreted exopolysaccharides, we have developed culture and polysaccharides extractions conditions that enhance the final yield and its purity. Monosaccharide composition of the culture supernatant extracted polysaccharide determined by HPLC chromatography revealed the same composition that the cell galactan already identified by Plackett & Buttery. Dot blot experiments showed that this compound is immuno-detected by infected cattle sera.

Furthermore, some MmmSC strains present translucent and opaque colony phenotypes due to an ON/OFF switch of the glucose phosphotransferase system permease gene. These phenotypes are potentially related to variations in capsule production.

Polysaccharides extracted from culture supernatants of these two variants showed that the translucent variant produced this secreted galactan contrarily to the opaque variant which is clearly not able to do so. MmmSC populations appear to be a mix of cells that are able or not able to secrete galactan and further work is needed to check if this mechanism is linked to virulence.

Mots-clés : *Mycoplasma mycoides*, bovine pleuropneumonia, secreted exopolysaccharides, virulence

P36 - Effets de la toxine bactérienne CDT sur l'ADN et mécanismes cellulaires de signalisation**Elisabeth Bezine**, Yoann Fedor, Julien Vignard, Elisa Boutet,

Bernard Salles & Gladys Mirey

elisabeth.bezine@toulouse.inra.frPoster
Doctorant

INRA, UMR1331 ToxAlim, 180 chemin de Tournefeuille, BP 93173, 31027 Toulouse Cedex 3

La Cytolethal Distending Toxin (CDT) est un facteur de virulence produit par de nombreuses bactéries pathogènes (*Escherichia coli*, *Helicobacter hepaticus*, *Haemophilus ducreyi*, etc) colonisant la cavité buccale, le tractus intestinal, le foie etc. La toxine CDT a été découverte à partir d'isolats cliniques de patients souffrant de diarrhées causées par une infection à *Escherichia coli* (Johnson and Lior., 1988). Plusieurs études ont montré que la toxine CDT est un facteur de virulence, jouant un rôle dans la pathogénicité des bactéries qui la produisent (Ge *et al.*, 2008). En effet, la toxine CDT est essentielle pour que *Helicobacter hepaticus* et *Campylobacter jejuni* colonisent durablement le système gastro-intestinal et puissent induire une inflammation sévère des muqueuses ou du foie, dans un modèle murin. De plus, dans un modèle murin immunocompétent, l'expression de CDT par *H. hepaticus* stimule le développement d'infections hépatiques et l'apparition de nodules dysplasiques hépatiques (Ge *et al.*, 2007), ce qui démontre le potentiel carcinogène de CDT. Compte tenu du rôle de CDT dans la pathogénicité des bactéries qui la produisent, il est donc fondamental de caractériser précisément le mécanisme d'action de cette toxine sur les cellules eucaryotes.

Dans la littérature, il a été caractérisé que CDT induit des cassures double-brin (CDB) de l'ADN, conduisant à un arrêt du cycle cellulaire en G1/S ou G2/M, une activation des systèmes de réparation de l'ADN, une inhibition de la prolifération et une augmentation de la mort des cellules par apoptose. CDT agit donc comme une génotoxine et une cyclomoduline. Afin de protéger l'intégrité de leur génome, les cellules eucaryotes possèdent des mécanismes de détection et de signalisation des dommages à l'ADN. L'induction de dommages à l'ADN par la toxine CDT entraîne une cascade de signalisation similaire à celle activée en réponse aux irradiations. En effet, la voie de réponse aux CDB dépendante des kinases ATM et CHK2 est activée (Alaoui-El-Azher *et al.*, 2010 ; pour revue, Jinadasa *et al.*, 2011). Cependant, nous avons montré qu'à des doses 1000 fois plus faibles que celles utilisées dans la littérature, CDT induit des cassures simple-brins multiples qui, lors de la réplication, induisent un stress réplcatif avant de dégénérer en CDB. Ces dommages entraînent une activation de la voie impliquant les protéines RPA, ATR, et CHK1, caractéristiques d'un stress réplcatif, avant une activation de la voie ATM. En se basant sur ces résultats, nos objectifs sont 1- de caractériser la sensibilité des cellules en fonction des différentes phases du cycle cellulaire, 2- de définir les dommages induits ainsi que 3- définir le(s) mécanisme(s) de réparation(s) impliqué(s) dans la prise en charge de ces dommages. Nos travaux permettent donc de mieux comprendre l'activité des bactéries exprimant CDT et d'ouvrir potentiellement de nouvelles pistes thérapeutiques, en ciblant par exemple les mécanismes de génotoxicité associés.

Références bibliographiques :

- Alaoui-El-Azher, M., Mans, J.J., Baker, H.V., Chen, C., Progulske-Fox, A., Lamont, R.J., Handfield, M. (2010) Role of the ATM-Checkpoint Kinase 2 Pathway in CDT-Mediated Apoptosis of Gingival Epithelial Cells, *PLoS ONE*. **5**(7): e11714.
- Ge, Z., Rogers, A.B., Feng, Y., Lee, A., Xu, S., *et al.* (2007) Bacterial cytolethal distending toxin promotes the development of dysplasia in a model of microbially induced hepatocarcinogenesis. *Cellular Microbiology*. **9**, 2070-2080
- Ge, Z., Schauer, D.B., Fox, J.G. (2008) In vivo virulence properties of bacterial cytolethal distending toxin. *Cell Microbiol.* **10**(8), 1599-1607
- Jinadasa, R.N., Bloom, S.E., Weiss, R.S., Duhamel, G.E. (2011) Cytolethal distending toxin: a conserved bacterial genotoxin that blocks cell cycle progression, leading to apoptosis of a broad range of mammalian cell lineages, *Microbiology*. **157**, 1851-1875

Mots-clés : toxine bactérienne, Cytolethal Distending Toxin, génotoxicité, réplication, stress réplcatif, cycle cellulaire

P37 - Division of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* into two lineages revealed by the characterization of the adhesin HBHA

Louise.H Lefrancois¹, Christelle.C Bodier¹, Thierry Cochard¹, Florence Gilbert¹, Sylvie Canepa², S Lecher³, Dominique Raze³, Philippe Lanotte^{1,4}, Eve Haguenoer⁴, Iker.A Sevilla⁵, Karen Stevenson⁶, Marcel Behr⁷, Desmond Collins⁸, Camille Locht³ & **Franck Biet**¹

Franck.biet@tours.inra.fr

¹ INRA, UMR1282, ISP Centre de Tours, Nouzilly, France

² INRA, PAIB, UMR6175 Centre de Tours, Nouzilly, France

³ CIIL, INSERM, CNRS, University of Lille Nord, Institut Pasteur, Lille, France

⁴ CHRU Bretonneau, Tours, France

⁵ Neiker-tecnalia, Bizkaia, Spain

⁶ Moredun Research Institute, Pentlands, Scotland, United Kingdom

⁷ McGill University, QC, H3G 1A4 Montreal, Canada

⁸ AgResearch, National Centre for Biosecurity and Infectious Disease, Wallaceville, New Zealand

Background – In the subspecies *M. avium* ssp. *paratuberculosis* (*Map*) two groups, known as Cattle (C) and Sheep (S), have been defined by genotyping [1]. Recent studies show that *Map* C and S have different phenotypes with respect to infection of macrophages and iron metabolism [2]. *Map* is adapted to the gastrointestinal tract of ruminant, but the mechanism of entry is currently unknown. In this study, we investigated the phenotype of the *Map*-host interaction, involving the virulence factor heparin-binding hemagglutinin (HBHA), for both groups of *Map*. HBHA is described in *M. tuberculosis* as a major adhesin required for extrapulmonary dissemination of the tubercle bacillus [3]. **Method** – A large collection of *Map* isolates (types C & S) were genotyped by MIRU-VNTR and RFLP-*IS*900. The polymorphism of the *hbha* gene was investigated by fragment analysis using GeneMapper technology. Structure-functions properties of recombinant HBHA (types C & S) were analyzed by Heparin-Sepharose chromatography and surface plasmon resonance (SPR) analysis based on Biacore technology. **Results** – *In silico* analyses of both types of *Map* have revealed two forms of *hbha*. This observation, showing that *hbha* is distinct according to the group, was confirmed using GeneMapper on 83 *Map* strains (65 *Map* C & 18 *Map* S) with various genotypes. We found that *Map* type C produces HBHA with a short C-terminal domain, while that of type S presents a long C-terminal domain, similar to that of HBHA produced by *M. tuberculosis*. The purification of HBHA from *Map* type C and S by Heparin-sepharose chromatography highlighted a correlation between their affinities to heparin and the length of their C-terminal domain confirmed by Biacore analysis. **Conclusion** – We show for the first time that the types C and S of *Map* may be distinguished by the type of HBHA they produce, which differs in size and adherence properties. Thus, HBHA participates in the genotypic and phenotypic differences observed between the C and S types of *Map*.

Références bibliographiques :

1. Alexander DC, Turenne CY, Behr MA: Insertion and deletion events that define the pathogen *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *J Bacteriol* 2009, 191(3):1018-1025.
2. Janagama HK, Kumar S, Bannantine JP, Kugadas A, Jagtap P, Higgins L, Witthuhn B, Sreevatsan S: Iron-sparing Response of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* is strain dependent. *BMC Microbiol* 2010, 10(1):268.
3. Pethe K, Alonso S, Biet F, Delogu G, Brennan MJ, Locht C, Menozzi FD: The heparin-binding haemagglutinin of *M. tuberculosis* is required for extrapulmonary dissemination. *Nature* 2001, 412(6843):190-194.

Mots-clés : *Mycobacterium*, *Paratuberculosis*, Adhesine, Heparine

P38 - Nouvelle approche dans l'identification de facteurs de virulence chez la bactérie pathogène d'insecte *Xenorhabdus* : comparaison de souches virulentes et avirulentes.

Gaëlle Bisch¹, Jean-Claude Ogier¹, Sophie Gaudriault¹

gaelle.bisch@etud.univ-montp2.fr

Poster
Doctorant

¹ Laboratoire Diversité, Génomique et Interactions Microorganismes-Insectes (DGIMI), UMR 1333 (INRA-UM2), Université Montpellier 2, Place Eugène Bataillon, 34095 Montpellier

Xenorhabdus est une entérobactérie pathogène d'insectes. Nous avons mis en place une nouvelle approche pour identifier les gènes responsables de sa virulence. Nous avons comparé les génomes de souches virulentes ou avirulentes (virulence testée par injection directe dans une larve d'insecte), afin d'identifier les gènes présents uniquement dans les génomes des souches virulentes (gènes de virulence potentiels). Les gènes candidats se classent en cinq grandes familles :

- un gène codant une hémolysine induisant la nécrose et l'apoptose des hémocytes, les cellules immunitaires de l'insecte (Vigneux *et al.* 2007)
- un gène codant une dioxygénase impliquée dans le métabolisme de cycles aromatiques, qui pourrait interférer avec l'activité de la phénoloxydase, un des acteurs du système immunitaire humoral des insectes
- des gènes codant des systèmes toxine/antitoxine impliqués dans la stabilité de régions génomiques et la résistance aux molécules antimicrobiennes (Van Melderren & Saavedra De Bast 2009)
- un gène codant la protéine membranaire PagC, interférant chez des bactéries pathogènes de mammifères avec le système du complément et la phagocytose (Nishio *et al.* 2005)
- plusieurs gènes codant des protéines de fonction inconnue, dont certains sont également présents dans d'autres espèces pathogènes.

La deuxième phase de ce projet consiste à introduire dans les souches avirulentes des plasmides exprimant les gènes candidats. Ces transconjugants sont ensuite testés pour différents phénotypes : restauration de la virulence après injection dans l'insecte, développement du nématode dans le cadavre de l'insecte, capacité à bloquer certaines réactions immunitaires. A terme, ce travail devrait permettre une meilleure compréhension de la virulence chez *Xenorhabdus*, mais également chez d'autres bactéries partageant ces facteurs de virulence.

Références bibliographiques :

Van Melderren, L. & Saavedra De Bast, M. (2009). Bacterial toxin-antitoxin systems : more than selfish entities ? *PLoS genetics*, 5(3), p.e1000437.

Nishio, M. *et al.* (2005). Identification of the outer-membrane protein PagC required for the serum resistance phenotype in *Salmonella enterica* serovar *Choleraesuis*. *Microbiology*, 151(Pt 3).

Vigneux, F. *et al.* (2007). The *xaxAB* Genes Encoding a New Apoptotic Toxin from the Insect Pathogen *Xenorhabdus nematophila* Are Present in Plant and Human Pathogens. *Journal of Biological Chemistry*, 282(13).

Mots-clés : *Xenorhabdus*, nématode, bactérie entomopathogène, génomique comparative, complémentation de fonction

P39 - Inhibition of *Staphylococcus aureus* invasion into mammary epithelial cells by *Lactobacillus casei* CIRM-BIA 667

Damien Bouchard^{1,2}, Lucie Rault^{1,2}, Nadia Berkova^{1,2}, Yves Le Loir^{1,2}
and Sergine Even^{1,2}

Poster
Doctorant

sergine.even@rennes.inra.fr

¹ INRA, UMR1253, Rennes, France;

² Agrocampus Ouest, UMR1253, Rennes, France

Staphylococcus aureus is a major pathogen responsible for mastitis in dairy herds. *S. aureus* mastitis are reportedly difficult to tackle and prone to recurrence despite antibiotic treatment. The ability to invade mammary epithelial cells (MEC) and thus to evade the immune system is evoked to explain chronicity of *S. aureus* mastitis. One sustainable alternative to treat or prevent mastitis is the use of lactic acid bacteria (LAB), as mammary probiotic. In this study, we tested the ability of *Lactobacillus casei* CIRM667 to prevent invasion of bovine MEC (MAC-T) by two bovine strains of *S. aureus*, RF122 and Newbould305, which reproducibly induce acute and moderate mastitis, respectively. *L. casei* CIRM667 affected both adhesion and internalization of *S. aureus* in a strain-dependent manner and for specific ratios of *L. casei* / *S. aureus*. *L. casei* was able to reduce 40% of *S. aureus* RF122 adhesion and 60% to 80% of *S. aureus* Newbould 305 and RF122 internalization, respectively, without affecting MEC morphology and viability. Once internalized, the fate of *S. aureus* was not affected by *L. casei*. Interestingly, *L. casei* was internalized at a low rate but survived in MAC-T cells with a better efficiency than *S. aureus* RF122. Inhibition of *S. aureus* adhesion was maintained with heat killed *L. casei* whereas live *L. casei* were required to prevent *S. aureus* internalization. This first study on the antagonism of LAB against *S. aureus* in a mammary context opens avenues for the development of novel prevention strategies against this major pathogen.

Mots-clés : *S. aureus*, adhesion, internalization, epithelial cells, mastitis

P40 - Nitric oxide (NO): a key player in the senescence of *Medicago truncatula* root nodules.

Yvan Cam¹, Olivier Pierre², Eric Boncompagni², Didier Hérouart², Eliane Meilhoc¹ and **Claude Bruand**¹

Claude.Bruand@toulouse.inra.fr

¹Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), INRA 441 - CNRS 2594, 24 Chemin de Borde Rouge, Auzeville, CS 52627, F-31326 Castanet-Tolosan cedex, France.

²Institut Sophia Agrobiotech (ISA), INRA 1355 - CNRS 7254 - Université de Nice-Sophia Antipolis, 400 route des Chappes, BP 167, F-06903 Sophia-Antipolis cedex, France

The interaction between rhizobia and legume plants culminates in the formation of specialized root organs called nodules, in which differentiated endosymbiotic bacteria fix nitrogen to the benefit of their host. Interestingly, NO has been detected at different steps of the symbiosis between legumes and rhizobia and has probably not a unique role in symbiosis. We have previously shown that NO is required for an optimal establishment of the *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti* symbiotic interaction (del Giudice et al. 2011, New Phytol **191**:405). In the work presented here, we investigated the role of NO in late stages of symbiosis.

Genetic and pharmacological approaches allowed us to modulate the NO levels inside root nodules. We found that an increase in endogenous NO levels leads to a reduction of nitrogen fixation and an early nodule senescence, characterized by cytological modifications of the nodule structure and early expression of a specific senescence marker. In contrast, a decrease of NO levels delays nodule senescence.

Altogether, our results strongly suggest that NO could be a signal in developmental as well as stress-induced nodule senescence. In addition, this work evidences a pivotal role of the bacterial NO detoxification response in the prevention of early nodule senescence and hence maintenance of efficient symbiosis.

Mots-clés : Nitric oxide, *Medicago truncatula*, *Sinorhizobium meliloti*, symbiosis, nodule senescence, flavohemoglobin.

P41 - Identification d'une souche probiotique ayant un effet protecteur chez la souris contre le virus de la grippe H1N1 PR8_'34

Noura Kechaou¹, **Florian Chain**¹, Jean Marc Chatel¹, Nicolas Bertho², Ronan Le Goffic², Christophe Chevalier², Philippe Langella¹ and Luis G. Bermudez-Humaran¹

florian.chain@jouy.inra.fr

¹INRA MICALIS-Microbiologie de l'Alimentation au Service de la Santé humaine

Equipe Interactions des bactéries commensales et probiotiques avec l'hôte, Domaine de Vilvert-Bât. 440 R-2, 78352, Jouy-en-Josas, cedex France ;

²INRA VIM Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires ; Domaine de Vilvert-Bât. 440 R+1, 78352, Jouy-en-Josas, cedex France

Les probiotiques sont des microorganismes vivants, qui lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent un effet positif sur la santé au-delà des effets nutritionnels traditionnels (OMS, 2001). La majorité des bactéries probiotiques commercialisées actuellement sont des bactéries lactiques (BL).

Les infections hivernales sont de nature très variées et leur prévalence augmente en particulier en hiver à cause notamment de la baisse de température qui déstabilise l'organisme humain. La grippe est causée par une contamination virale et affecte le tractus respiratoire. Elle cause de nombreux symptômes tels que fièvre, toux et sécrétions nasales. L'objectif de ce travail était d'identifier une souche probiotique pouvant prévenir ce genre d'infections virales. Pour cela, nous sommes partis d'une collection de bactéries regroupant plus de 150 souches bactériennes, majoritairement des BL. Ces souches ont dans un premier temps été testées *in vitro* dans deux modèles cellulaires : les cellules épithéliales HT-29 et les cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMC). La production de cytokines (IL-8 par HT-29, IL-10 et IL-12p70 par les PBMC) suite à la co-incubation des bactéries avec les cellules a été mesurée par ELISA. Ce double screening nous a permis d'identifier des souches immuno-modulatrices ayant le même profil immuno-modulateur dans les deux modèles (7 souches anti-inflammatoires et 23 souches pro-inflammatoires). Une partie de ces souches, dont la souche *Lactobacillus plantarum* CNRZ 1997 aux propriétés pro-inflammatoires *in vitro*, ont dans un deuxième temps été testées dans un modèle murin d'infection par le virus de la grippe (H1N1, PR8/34). Un gavage oral quotidien 10 jours avant et après l'inoculation virale (20 jours de gavage total) chez des souris BALB/c femelles a permis d'atténuer les effets du virus avec i) une perte de poids des souris diminuée et ii) une diminution de la charge virale dosée par qPCR dans les poumons des souris traitées avec la CNRZ 1997 de 76%.

Cette souche, aux propriétés protectrices contre la grippe, fait en ce moment l'objet d'une étude clinique humaine par notre partenaire industriel. En perspective à cette étude, nous prévoyons d'identifier les mécanismes d'action de la souche probiotique CNRZ 1997 impliqués dans les effets bénéfiques exercés sur l'hôte.

Mots-clés : *Lactobacillus plantarum*, immuno-modulation, virus de la grippe, probiotiques

P42 - Oral food-grade lactic acid bacteria recombinant for Elafin restores elastolytic homeostasis in the colon and protects from intestinal inflammation

Luis G. Bermúdez-Humarán^{*1}, J.P. Motta^{*2,3,4}, C. Deraison^{2,3,4}, L. Martin^{2,3,4}, C. Rolland^{2,3,4}, P. Rousset^{2,3,4}, K. Chapman⁵, P. Kharrat¹, J.P. Vinel^{4,6}, L. Alric^{4,6}, E. Mas^{2,3,4,7}, J.M. Sallenave^{8,9}, P. Langella^{*1}, N. Vergnolle^{*2,3,4,5} [Poster présenté par **Florian Chain**]

Luis.Bermudez@jouy.inra.fr

* Equal contribution

¹ INRA, UMR1319 Micalis, Commensal and Probiotics-Host Interactions Laboratory, Domaine de Vilvert, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France.; ¹Inserm, U1043, Toulouse, F-31300, France

² CNRS, U5282, Toulouse, F-31300, France

³ Université de Toulouse, UPS, Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan (CPTP), Toulouse, F-31300, France

⁵ Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada

⁶ Pôle Digestif, CHU Purpan, Toulouse, France

⁷ Division of Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Children's Hospital, Toulouse, France

⁸ Institut Pasteur, Unité de Défense Innée et Inflammation, Paris, France

⁹ INSERM U874, Paris, France.

Elafin, a natural protease inhibitor expressed in healthy intestinal mucosa has pleiotropic anti-inflammatory properties *in vitro* and in animal models. We show here that its protein expression is defective in the mucosa of Inflammatory Bowel Disease (IBD) patients and that this defect is associated with an increase in elastolytic activity. We thus engineered two strains of food-grade Elafin-expressing lactic acid bacteria (LAB) to allow Elafin delivery *in situ*, at inflamed sites, in order to assess its potential therapeutic benefits. In mouse model of colitis we showed that oral treatments with Elafin-expressing LAB restores *in situ* elastolytic homeostasis and markedly reduces intestinal inflammation. In cultures of human intestinal epithelial cells we demonstrated that Elafin-secreting LAB protected inflamed epithelium from increased intestinal permeability, cytokine and chemokine release, all features characteristic of IBD-associated intestinal dysfunctions. Altogether, these results afford the proof of concept of IBD treatment by oral delivery of Elafin-secreting LAB (1).

Références bibliographiques :

1. Motta, JP et al. 2012. Oral food-grade lactic acid bacteria recombinant for Elafin restores elastolytic homeostasis in the colon and protects from intestinal inflammation. Sous presse dans *Science Translational Medicine*.

Mots clés: Elafin, (anti-)proteases, elastase, inflammation, colitis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, Ulcerative Colitis, lactic acid bacteria, Lactococcus, Lactobacillus

P43 - Pili present at the surface of a natural *Lactococcus lactis* strain confer adhesion to intestinal epithelial cells and to mucins.

Mickael Meyrand^{1,2}, Lam Le^{3,4,5,9,10}, Alain Guillot^{1,2}, Mélodie Goin^{1,2}, Naïma Cortes-Perez^{1,2}, Juliya Armalyte^{1,2}, Stéphane Chaillou^{1,2}, Sophie Chat⁶, Vincent Dupres⁷, Yves Dufrêne⁷, Catherine Sapin⁸, Germain Trugnan⁸, Pascal Loubière^{3,4,5}, Etienne Dague^{9,10}, Muriel Mercier-Bonin^{3,4,5} &

Marie-Pierre Chapot-Chartier^{1,2}

Marie-Pierre.Chapot@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

² AgroParisTech, UMR Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

³ INRA, UMR792 Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, F-31400 Toulouse, France

⁴ Université de Toulouse; INSA, UPS, INP; LISBP, 135 Avenue de Rangueil, F-31077 Toulouse, France

⁵ CNRS, UMR5504, F-31400 Toulouse, France

⁶ INRA, UR1196 Génétique et Physiologie de la Lactation, MIMA2, F-78350 Jouy-en-Josas, France,

⁷ Institut de la Matière condensée et des Nanosciences, Université catholique de Louvain, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique

⁸ UPMC U-Paris 6, ERL INSERM U1057/UMR7203, CHU Saint-Antoine, F-75012 Paris, France

⁹ CNRS ; LAAS ; 7 avenue du colonel Roche, F-31077 Toulouse cedex 4, France

¹⁰ Université de Toulouse; UPS, INSA, INP, ISAE; UT1, UTM, LAAS, ITAV; F-31077 Toulouse cedex 4, France

Adhesion of probiotic bacteria to intestinal mucosa is important to promote their persistence in the gastrointestinal tract (GIT) and their beneficial effects to the host, such as pathogen exclusion or immunomodulatory effects. In this study, we have characterized the molecular determinants involved in adhesion of a selected natural *Lactococcus lactis* strain to both intestinal epithelial cells and mucins.

Among seven tested *L. lactis* strains exhibiting different surface physico-chemical properties, only one strain from vegetal origin named TIL448 strongly adhered to Caco-2 intestinal epithelial cells. In addition, this strain specifically adhered to mucins, as measured on the pig gastric mucin (PGM) at the single cell level by atomic force microscopy. The molecular determinants of adhesion to both Caco-2 cells and PGM were shown to be plasmid-encoded. Surface-exposed proteins in TIL448 were analyzed by a proteomic approach. This allowed us to identify a plasmid-encoded surface protein displaying pilin characteristics. The corresponding gene was located in a cluster of four genes encoding three pilin-like proteins and one class C sortase. Synthesis of pili was confirmed by immunoblotting detection of high molecular weight forms of pilins associated to the cell wall as well as by microscopy observations. Inactivation of the major pilin gene led to the absence of pili in TIL448. The pilin-negative mutant did not adhere anymore to Caco-2 cells and exhibited reduced adhesion to PGM. As a conclusion, pili are synthesized at the surface of *L. lactis* TIL448 and are involved in adhesion to both Caco-2 cells and PGM.

Mots-clés : Lactic acid bacteria, pili, adhesion, intestinal mucosa, mucins

P44 - Glycosylation pattern of SRR1, a serine-rich surface protein of *Streptococcus agalactiae*

Thibault Chaze^{1,2}, Alain Guillot^{2,3}, Anne-Marie Di Guilmi⁴, Shaynoor Dramsi⁵, Benoit Valot⁶, Patrick Trieu-Cuot⁵ et Michel-Yves Mistou^{1,2}

thibault.chaze@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 MICALIS, Equipe PAROI, Jouy-en-Josas, France.

² AgroParisTech, UMR MICALIS, Jouy-en-Josas, France.

³ INRA, UMR 1319 MICALIS, PAPPSO, Jouy en Josas, France

⁴ CEA, Institut de Biologie Structurale Jean Pierre Ebel, Grenoble, France

⁵ Institut Pasteur, Unité biologie des bactéries pathogènes à Gram-positif, Paris, France

⁶ INRA, UMR 0320/UMR8120 Génétique Végétale, PAPPSO, Gif sur Yvette, France

Streptococcus agalactiae [Group B Streptococcus or GBS] is a gram positive bacterium, commensal of animal species. In Human, GBS is a colonizer of the gastro-intestinal and urogenital tracts of up to 40% of healthy individuals. In certain circumstances, GBS becomes a life-threatening pathogen: it is the major cause of severe infections in newborns, causing sepsis, pneumonia and meningitis [1].

Former biochemical and genetic studies have shown that SRR1, a surface-exposed LPxTG protein of GBS is glycosylated. Its glycosylation status is involved in bacterial virulence and influences host colonization [2]. The objective of the present work was to gain information on the glycoforms of SRR1. For that purpose, we performed experiments based on glycoprotein purification, glycopeptide characterization by high resolution nanoLC-MS/MS and sugar-based investigations (GC-MS for sugar composition, Sialic Acid detection, LC-MS of oligosaccharides). In parallel, we developed an *in vitro* enzymatic system to reconstitute the first steps of SRR1 glycosylation. The analysis of the glycoprotein synthesized *in vitro* confirmed the efficiency and the specificity of the recombinant glycosyltransferases, paving the way for the understanding of the whole SRR1 glycosylation machinery.

By combining different biochemical strategies in various genetic context we identified SRR1 glycopeptides. By using specifically developed bioinformatics tools we highlighted the high micro-heterogeneity of SRR1 glycopeptides. Finally, we identified a new sugar modification carried on SRR1 and never described as a modification at a protein level.

Références bibliographiques :

[1] Doran, K.S., Nizet, V., 2004.. Mol. Microbiol. 54, 23-31.

[2] Mistou, M.-Y., Dramsi, S., Brega, S., Poyart, C., Trieu-Cuot, P., 2009. J. Bacteriol. 191, 4195-4206.

Mots-clés : surface glycoprotein, *in vitro* glycosylation, mass spectrometry

P45 - Effects of natural mutations in the *ramRA* locus on invasiveness of epidemic fluoroquinolone-resistant *Salmonella Typhimurium* isolates

Etienne Giraud ^{1,2}, Sylvie Baucheron ^{1,2}, Isabelle Virlogeux-Payant ^{1,2}, Kunihiro Nishino ³,
Axel Cloeckaert^{1,2}

Axel.Cloeckaert@tours.inra.fr

¹INRA, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly, France

²Université François Rabelais de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37000 Tours, France

³Laboratory of Microbiology and Infectious Diseases, Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University, Ibaraki, Osaka, Japan

Resistance of *Salmonella* spp to antimicrobials of the fluoroquinolone (FQ) resistance is increasing worldwide. Among the mechanisms involved, increased efflux via the tri-partite AcrAB-TolC multidrug efflux system is mainly transcriptionally controlled by the *ramRA* regulatory locus. The binding of RamA to the operator regions of the *acrAB* and *tolC* genes activates their transcription. In susceptible strains, *ramA* transcription is repressed by RamR, whose gene is located immediately upstream of *ramA*. RamA overproduction associated to mutations that alter the RamR repressor or its binding to the *ramA* promoter classically mediate a two- to four-fold increase of resistance levels in clinical and experimentally selected strains of *S. Typhimurium* and other *S. enterica* serovars. Furthermore, a recent study showed that *ramA* overexpression could decrease the expression of cell invasion-related genes of the type III secretion system-1 (T3SS-1). A matter of concern is that *ramRA* mutations resulting in enhanced efflux-mediated resistance to multiple antibiotics including FQ, may also influence the virulence of clinical strains.

In this study, we used qRT-PCR and cell invasion assays to address the effect on the transcription of efflux- and invasion-related genes and on the invasiveness, of natural *ramRA* mutations present in three FQ-resistant *S. Typhimurium* clinical isolates of the DT104 and DT204 epidemic clones.

As previously shown, the investigated mutations altering the RamR repressor or its DNA binding site increased expression of efflux genes dependently on *ramA*. However, the decreased expression of T3SS-1 genes previously reported was not always observed and seemed to be dependent on the genetic background of the FQ-resistant isolate. As well a *ramA*-dependent decreased invasion of intestinal epithelial cells was observed for only one particular clinical *ramR* mutant.

In conclusion, the regulation of *S. Typhimurium* invasiveness by the *ramRA* locus appears variable both at the transcriptional and at the phenotypic level, even between strains of the same definitive phage type. Therefore, the acquisition of natural *ramRA* mutations that confer increased resistance levels to multiple antibiotics and participate in FQ-resistance may also negatively modulate the invasiveness of some particular, but not all *S. Typhimurium* strains.

Références bibliographiques :

Nikaido E, Yamaguchi A, Nishino K. AcrAB multidrug efflux pump regulation in *Salmonella enterica* serovar typhimurium by RamA in response to environmental signals. *J Biol Chem* 2008; 283:24245-53.

Baucheron S, Coste F, Canepa S, et al. Binding of the RamR repressor to wild-type and mutated promoters of the *ramA* gene involved in efflux-mediated multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:942-8.

Abouzeed YM, Baucheron S, Cloeckaert A. *ramR* mutations involved in efflux-mediated multidrug resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:2428-34.

Kehrenberg C, Cloeckaert A, Klein G, Schwarz S. Decreased fluoroquinolone susceptibility in mutants of *Salmonella* serovars other than Typhimurium: detection of novel mutations involved in modulated expression of *ramA* and *soxS*. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64:1175-80.

Bailey AM, Ivens A, Kingsley R, Cottell JL, Wain J, Piddock LJV. RamA, a member of the AraC/XylS family, influences both virulence and efflux in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J Bacteriol* 2010; 192:1607-16.

Mots-clés : *Salmonella*, multidrug resistance, cell invasion, transcriptional regulation

P46 - La génotoxine colibactine de *E. coli* stimule la tumorigénèse en impactant la sumoylation des protéines de l'hôte

Antony Cougnoux¹, Guillaume Dalmasso¹, Ruben Martinez²,
Julien Delmas^{1,3}, Lucie Gibold^{1,3}, Emmanuel Buc^{1,3}, Harald Wodrich²,
Denis Pezet^{1,3}, Arlette Darfeuille-Michaud¹ et Richard Bonnet^{1,3}

Poster
Doctorant

antony.cougnoux@udamail.fr

1 : Microbiote intestin inflammation et susceptibilité de l'hôte, usc INRA 2018 université d'auvergne, Clermont-Ferrand, FRANCE

2 : Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité, UMR CNRS 5234, Bordeaux, FRANCE

3 : Centre Hospitalier Universitaire, Clermont-ferrand, FRANCE

La flore intestinale pourrait promouvoir la formation du cancer colorectal. De nombreux *Escherichia coli* associés à la muqueuse et isolés de cancer colorectal portent l'îlot génomique *pks* (*E. coli pks*), qui est responsable de la synthèse de colibactine, un composé génotoxique. Dans ce travail, nous montrons que *E. coli pks* stimule la croissance des tumeurs dans un modèle murin de xénogreffes. Cette croissance est associée à l'apparition de cellules sénescentes produisant des facteurs de croissance. Nous démontrons que la sénescence cellulaire est la conséquence d'une altération des processus de SUMOylation, une modification post-transcriptionnelle essentielle des protéines eucaryotes. La cascade d'événements induite par *E. coli pks* comprend la surexpression du microRNA-20a-5p, qui réprime l'expression de SENP1, une protéine clef dans la régulation des processus de SUMOylation. Ces résultats étaient concordants avec le profil d'expression de microRNA-20a-50p, SENP1 et des facteurs de croissance dans des biopsies de tumeurs coliques humaines colonisées par *E. coli pks*. Au total, ces résultats révèlent un nouveau paradigme de la carcinogénèse colorectal et des relations qu'elle entretient avec les bactéries du microbiote intestinal.

P47 - Des inhibiteurs bloquant l'activité génotoxique de la colibactine en ciblant la peptidase ClbP de l'îlot *pks*

Antony Cougnoux¹, Julien Delmas^{1,2}, Lucie Gibold^{1,2},
Guillaume Dalmasso¹, Gabriel Cuevas-Ramos³, Frederic Robin^{1,2},
Eric Oswald³, Arlette Darfeuille-Michaud^{1,4}, Fabio Prati⁵, Richard Bonnet^{1,2}

Poster
Doctorant

antony.cougnoux@udamail.fr

1 : Microbiote intestin inflammation et susceptibilité de l'hôte, INRA USC - Inserm U1071 - université d'auvergne, Clermont-Ferrand, FRANCE

2 : Laboratoire de bactériologie, Centre Hospitalier Universitaire, Clermont-Ferrand, FRANCE

3 : Pathogénie moléculaire et cellulaire des infections à *Escherichia coli*, INRA USC - Inserm U1043, Toulouse, FRANCE

4 : Institut universitaire et technologique, Aubière, FRANCE

5 : Département de chimie, université de Modène, ITALIE

La colibactine est une génotoxine de *Escherichia coli* qui pourrait être impliquée dans le développement du cancer colorectal et affecter la réponse immunitaire de l'hôte lors d'infections aiguës. ClbP, une peptidase à sérine active, dont nous avons déterminé la structure, est nécessaire à la synthèse de la colibactine. La structure de ClbP a été utilisée pour cribler une banque de molécules « drug-like » *in silico* selon les méthodes d'« inverse docking » et de « docking ». Trois molécules ont été retenues et testées pour leur capacité à inhiber l'activité peptidase de ClbP. Leurs constantes d'inhibition étaient nano-molaires (ki : 240nM, 360nM et 440nM) et la structure de ClbP en complexe avec ces inhibiteurs a confirmé leur aptitude à lier le site actif. De plus, ils bloquaient l'activité génotoxique de *E. coli* producteurs de colibactine dans un modèle de cellules en culture et *ex vivo* dans un modèle murin d'anses ligaturées. En conclusion, ce travail a permis d'identifier trois inhibiteurs de ClbP capables de bloquer l'activité génotoxique des *E. coli* producteurs de colibactine.

P48 - The *Streptococcus salivarius* SecY2A2-Srr locus promotes bacterial aggregation, biofilm formation and adhesion to human epithelial cell.

Benoit Couvigny^{1*}, Romain Briandet¹, Céline Gautier¹,
Japhéte Mbouyou-boungou¹, Manfred Rohde², Saulius Kulakauskas¹,
Joel Doré¹, Pierre Renault¹, Nicolas Lapaque¹, Eric Guédon¹

benoit.couvigny@jouy.inra.fr

Poster
Doctorant

¹ INRA, UMR1319 Micalis, F-78350, France

² Department of Medical Microbiology, Helmholtz Centre for Infection Research (HZI), Braunschweig, Germany

In their natural environment, such as the human digestive tract, bacteria are rarely living as free-floating organisms but are organized in multicellular and multispecies communities that form complex and structured biofilm ecosystems. Bacterial attachment to host surfaces (i.e. extracellular matrix or epithelial cells) or to other bacteria, is a key event for colonization and persistence of both commensal and pathogenic bacteria. Therefore, to understand the mechanisms underlying bacterial colonization, we identified genes involved in this phenomenon in the primo colonizer bacterium, *Streptococcus salivarius*, which is a prevalent species of the human oropharyngeal tract with an important role in oral ecology. The approaches used and genes identified during this work will be presented. In particular, we will decipher the molecular and functional characterization of the secA2 system of *S. salivarius* JIM8777. This locus, which is structurally related to those found in other streptococci encodes an accessory Sec component (SecA2Y2 and accessory secretion proteins), glycosyltransferases and three serine-rich (Srr) surface proteins. The role of the different components of this system in extracellular fimbriae synthesis, auto-aggregation, biofilm formation and adhesion to eukaryotes cells will be described. The potential involvement of the accessory secretion system of *S. salivarius* in human colonization, maintenance of microbial ecosystem, oral homeostasis and human health will be discussed. Finally, this approach could be widely applied to other bacteria and ecosystems to identify new genes involved in bacteria/host interactions.

Mots-clés : accessory secretion system, Serine rich repeat protein, fimbriae, biofilm, adhesion, host interaction

P49 - Réponse de la cicadelle *Circulifer haematoceps* vecteur de *Spiroplasma citri* à une infection bactérienne

Rémi Eliautout^{1,2}, Marie-Pierre Dubrana^{1,2}, Joël Renaudin^{1,2}, Colette Saillard^{1,2}
et Nathalie Arricau-Bouvery^{1,2}

reliauto@bordeaux.inra.fr

Poster
Doctorant

1, INRA, UMR 1332 Biologie du Fruit et Pathologie, F-33140 Villenave d'Ornon, France

2, Univ. Bordeaux, UMR 1332 Biologie du Fruit et Pathologie, F-33140 Villenave d'Ornon, France

Spiroplasma citri est une bactérie dépourvue de paroi appartenant à la classe des Mollicutes. C'est une bactérie pathogène de plante, intra phloémienne, qui est transmise de plante à plante par la cicadelle *Circulifer haematoceps* (insecte hémiptère) selon un cycle persistant circulant/multipliant. La présence des bactéries, en quantité suffisante pour être transmises mais suffisamment limitée pour ne pas affecter la survie de l'hôte, présume l'existence d'un équilibre entre la multiplication des bactéries et la réponse immunitaire des insectes. C'est dans ce contexte que se pose la question du type de réponse immunitaire mis en place par *C. haematoceps* lors de l'infection par *S. citri*.

Pour identifier les gènes de la réponse immunitaire de la cicadelle suite à une infection par *Escherichia coli* (Gram -), *Micrococcus luteus* (Gram +) ou *S. citri*, une soustraction d'ADNc entre la cicadelle non infectée et la cicadelle infectée a été réalisée. A l'issue de ces soustractions, les clones ont été isolés et après vérification de leur contenu plasmidique, 1025 plasmides ont été séquencés. Après analyse de ces séquences avec les outils BlastN et BlastX, aucune EST ne présente d'homologie avec les gènes connus de l'immunité. En revanche, certaines EST présentent des similitudes de séquence avec le gène de la vitellogénine. Par ailleurs, la réponse cellulaire a également été étudiée. Les premiers résultats montrent que les hémocytes possèdent une morphologie granuleuse, sont capables d'adhésion et de phagocytose, et participeraient ainsi efficacement à la réponse de la cicadelle.

Mots-clés : Immunité insecte - Bactérie pathogène de plante - *Spiroplasma citri* - *Circulifer haematoceps* - PCR soustractive

P50 - Gut microbiota and immunity traits in a swine cohort.

P. Lepage^{a,b}, N. Mach^{c,d,e}, F. Levenez^{a,b}, G. Lemonnier^{c,d,e}, C. Denis^{c,d,e}, J. Bailly^e, J.J. Leplat^{c,d,e}, J. Doré^{a,b}, **Jordi Estellé**^{3,4,5}, C. Rogel-Gaillard^{c,d,e}, and the SUS_FLORA consortium.

jordi.estelle@jouy.inra.fr

^a INRA, UMR1319-MICALIS, Jouy-en-Josas, France

^b AgroParisTech, UMR1319-MICALIS, Jouy-en-Josas, France

^c INRA, UMR 1313 GABI, Jouy-en-Josas, France

^d AgroParisTech, UMR 1313 GABI, Jouy-en-Josas, France

^e CEA, DSV-IRCM-LREG, Jouy-en-Josas, France

^f INRA, UE 967 GEPA, Le Magneraud, France.

The intestinal microbiome plays a major role in host's physiology and homeostasis. It creates a barrier to infections, helps to develop and mature the immune system, and contributes to extract nutrients and energy from food. Despite large-scale studies in human, little is known on gut microbiota composition and potential associations with individuals' traits in swine. In order to get new insights into health traits and immunocompetence in swine, we have launched a national program (SUS_FLORA project) to study the links between gut microbial composition and a wide range of innate and adaptive immunity traits (ITs) on a cohort of 384 French Large White pigs. Sixty-days old pigs were sampled for feces and peripheral blood on the same day. Fecal microbiota composition was assessed by pyrosequencing of the 16S rDNA (508 680 sequences after trimming). First results showed a predominance of *Prevotella* (51% sd. 14) followed by *Mitsuokella*, *Oscillibacter*, *Treponema*, *Roseburia* and *Faecalibacterium*. Based on bacterial genera, optimal clustering analyses revealed that the cohort could be divided into 3 to 4 clusters. Whether these clusters might prefigure enterotypes as recently identified in human is still under investigation. Associations between bacterial genera and immune traits throughout canonical correlation (rCCA) and sPLS analyses highlighted both positive and negative correlations between white blood cell counts (mainly monocytes and eosinophils) and genera such as *Prevotella*, *Chlamidia*, *Roseburia* and *Dialister*. Ongoing studies aim at deepening exploration of the pig gut microbiota and deciphering associations with a larger set of ITs. Our results will significantly contribute to a global overview of the correlations between gut microbiota and immunity in swine in the perspective to include new health traits in next generation animal production systems.

Mots-clés : Pig; Immune response; intestinal microbiota; metagenomics

P51 - Combination of *in silico* and proteomic approaches to identify candidate genes responsible for the immunomodulatory properties of *Propionibacterium freudenreichii*

Hélène Falentin^{1,2}, Caroline Le Marechal^{1,2}, Mahendra Mariadassou³, Valentin Loux³, Amal Hammani³, Julien Buratti³, Julien Jardin^{1,2}, Valérie Bion^{1,2}, Stéphanie-Marie Deutsch^{1,2}, Benoit Foligne^{4,5,6,7}, Gwenaël Jan^{1,2}

helene.falentin@rennes.inra.fr

¹ INRA, UMR 1253, Science et Technologie du Lait et de l'Oeuf, 35000, Rennes, France

² AGROCAMPUS OUEST, UMR1253, Science et Technologie du Lait et de l'Oeuf, F-35000 Rennes, France UMR Science et Technologie du Lait et de l'Oeuf, 35310, Rennes, France

³ INRA, Mathématique Informatique et Génome, 78 352, Jouy en Josas, France

⁴ Institut Pasteur de Lille, Lactic Acid Bacteria & Mucosal Immunity, Center for Infection and Immunity of Lille, 1, Rue du Pr Calmette, BP 245, F-59019 Lille, France

⁵ Université Lille Nord de France, 59000 Lille, France

⁶ CNRS, UMR 8204, 59021 Lille, France

⁷ Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U1019, 59019 Lille, France

Recent works have revealed highly strain-dependent immunomodulatory properties in *Propionibacterium freudenreichii*, a cheese starter bacterium (Foligné et al. 2010). The underlying mechanisms are unknown but preliminary attempts have shown that surface components are involved in these immunomodulatory effects. The most promising strains/components exert promising anti-inflammatory effects through induction of regulatory cytokines. The aim of this work is to identify key surface components of *Propionibacterium freudenreichii* responsible for the immunomodulatory properties.

12 strains of *Propionibacterium freudenreichii* were sorted according to their high or low regulatory properties, measured by induction of IL-10 cytokine in peripheral blood mononuclear cells stimulated by equal amounts of the different *P. freudenreichii* strains. These strains were sequenced by Illumina paired-end sequencing and de novo assembled using Velvet software. Genome sequences were automatically and manually annotated on the INRA-AGMIAL platform. Correlations are studied both (i) between quantitative traits (high or low induction of IL-10) and genotypic properties, namely presence/lack of in silico predicted proteins and (ii) between quantitative traits (high or low induction of IL-10) and in vitro data (surface exposed proteins). In both cases, we account for the phylogenetic inertia induced by the shared evolutionary history of the strains. For in vitro data, three methods (shedding using guanidium chloride, surface labeling using CyDye cyanine and shaving using trypsin combined with mass spectrometry) are used to identify *P. freudenreichii* surface proteins. Statistical analysis is used to highlight which of these proteins can potentially be involved in immunomodulation, comparing the proteins identified and IL-10 induction.

Statistical analyses of both in vitro and in silico approaches based on genome sequencing reveal targets potentially involved in immunomodulation. Both strategies are complementary. Proteomic approach followed by statistical analysis allow the identification of surface exposed proteins associated with immunomodulation, whereas in silico approach point out the mechanisms explaining the presence/ absence of the candidates on bacterial surface. Genome sequences, either directly used (in silico approach) or used as database (in vitro approach) determine key genes involved in the studied phenotypes. Candidate genes identified in the present study will be further characterized and their role in immunomodulation confirmed by knock out or overexpression of selected genes.

Références bibliographiques :

Foligne B., Deutsch S.M., Breton J., Cousin F.J., Dewulf J., Samson M., Pot B., Jan G. (2010) Promising Immunomodulatory Effects of Selected Strains of Dairy Propionibacteria as Evidenced *In Vitro* and *In Vivo*, Applied and Environmental Microbiology 76:8259-8264.

Mots-clés : *Propionibacteria*, probiotic, protein, immunomodulation, correlation, annotation, genome

P52 - Phytophthora parasitica biofilm and plant disease outcome

Eric Galiana, Marie Larousse, Benoît Industri, Catherine Mura, Michel Ponchet

galiana@sophia.inra.fr

INRA, UMR1301 (INRA-CNRS-Université de Nice Sophia-Antipolis) Interactions Biotiques et Santé Végétale, 06903 Sophia Antipolis, France

Oomycetes from the genus *Phytophthora* represent a major class of eukaryotic plant pathogens, most species causing devastating diseases in natural ecosystems as well as in numerous economically important crops. Alternatively to the single cell behaviour (zoospore encystment and germ tube penetration), the infection cycle may also involve cell population dynamics via the formation of biofilms. Initially the founder cells adhere to the host surface, aggregate to form a microcolony and drive the migration of a second wave of zoospores leading to massive encystment and cyst-orientated germination. The structure is rapidly colonized by different rhizospheric microorganisms forming a shared community in a mixed-species biofilm^{1,2}. A method was developed to screen the biofilm for characterizing pathogen-associated species affecting disease³. Two of the characterized eukaryotes interfered with the oomycete cycle and may affect the host disease. A *Vorticella* species acted through a mutualistic interaction with *P. parasitica*, disseminating pathogenic material by leaving the biofilm. A *Phoma* species established an amensal interaction with *P. parasitica*, strongly suppressing disease by inhibiting *P. parasitica* germination^{4,5}. Thus, as bacteria causing plant or human diseases the ability of an oomycete to form biofilm have an impact on the local environment and may contribute to disease outcome.

Références bibliographiques :

- 1- Galiana E., Fourré, S., Engler, G. (2008) *Phytophthora parasitica* biofilm formation: installation and organization of microcolonies on the surface of a host plant. *Environ Microbiol.* 10 (8), 2164–2171.
- 2- Theodorakopoulos N., Govetto B., Industri B., Massi L., Gaysinski M., Deleury E., Mura C., Marais A., Arbiol G., Burger A., Gourgues M., Panabières F., Ponchet M., Galiana E. (2011). Biology and Ecology of Biofilms formed by a plant pathogen *Phytophthora parasitica*: from biochemical Ecology to Ecological Engineering. *Procedia Environmental Sciences.* 9, 178-182.
- 3- Galiana E., Mura C., Marais A., Industri B., Arbiol G., Ponchet M. (2011). An ecosystem screening approach for pathogen-associated microorganisms affecting host disease. *Appl. Environ. Microbiol.* 77 (17) 6069-6075, doi:10.1128/AEM.05371-11.
- 4- Galiana E., Ponchet M., Marais A. (2011) Brevet N° WO/2011/110758 . Traitement des végétaux contre l'infection par des oomycètes.
- 5- Rivière M.P., Ponchet M., Galiana E. (2011). The Millardetian Conjunction in the Modern World, Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management, Margarita Stoytcheva (Ed.), ISBN: 978-953-307-459-7, Chapter 18, InTech.

Mots-clés : biofilm; oomycete; plant disease management ; ecological engineering

P53 - cAMP signaling in *Sinorhizobium meliloti* and the control of root infection

Symbiotic role of cAMP signaling in *Sinorhizobium meliloti*

Amandine Gastebois^{1,2}, Céline Mathieu-Demazière^{1,2}, Chang-Fu Tian^{1,2}, Badrish Soni^{1,2}, Marie-Anne Carpene³, Véréna Poinso³, Catherine Masson^{1,2}, Jacques Batut^{1,2} and Anne-Marie Garnerone^{1,2}

amandine.gastebois@toulouse.inra.fr

¹INRA, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR441, F-31326 Castanet-Tolosan, France.

²CNRS, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR2594, F-31326 Castanet-Tolosan, France

³Université Toulouse 3, CNRS, UMR 5623, Lab IMRCP, F-31062 Toulouse, France

Legumes and soil bacteria called rhizobia have co-evolved a facultative nitrogen-fixing symbiosis. Establishment of the symbiosis requires bacterial entry via root hair infection threads (ITs) and, in parallel, organogenesis of nodules that are subsequently invaded by bacteria. Tight control of nodulation and infection is required to maintain the mutualistic character of the interaction. Available evidence supports a passive bacterial role in nodulation and infection, after the microsymbiont has triggered the symbiotic plant developmental program.

We have identified in *Sinorhizobium meliloti*, the *Medicago* symbiont, a cAMP-signaling regulatory cascade consisting of three receptor-like adenylate cyclases, a Crp-like regulator (Clr) and a target gene of unknown function (Tian *et al.* PNAS USA 109:6751). The cascade is specifically activated by a plant signal during nodule organogenesis. Cascade inactivation results in a hyper-infection phenotype, consisting in abortive epidermal infection events uncoupled from nodulation. These findings show that rhizobia play an active role in the control of infection, in response to a plant signal. This regulatory loop likely contributes in optimizing legume infection. We will present our most recent results on the mechanism of activation of the regulatory cascade and how it may interfere with plant infection. Specifically, we will discuss the possibility that bacteria modulate the plant susceptibility to infection.

Références bibliographiques :

Tian CF, Garnerone AM, Mathieu-Demazière C, Masson-Boivin C and Batut J. Plant activated bacterial receptor adenylate cyclases modulate epidermal infection in the *Sinorhizobium meliloti*-*Medicago* symbiosis. PNAS, 2012, 109 (17), 6751-6756.

Mots clef : symbiosis, cAMP, hyperinfection, legume, signalling

P54 - Le microbiote intestinal détermine le développement des désordres métaboliques induits par un régime hyperlipidique

Tiphaine Le Roy^{1,2}, Marta Llopis^{1,2}, Patricia Lepage^{1,2}, Aurélia Bruneau^{1,2}, Sylvie Rabot^{1,2}, Claudia Bevilacqua³, Patrice Martin³, Catherine Philippe^{1,2}, Francine Walker⁴, André Bado⁴, Gabriel Perlemuter^{5,6,7}, Anne-Marie Cassard-Doulcier^{5,6}, **Philippe Gérard**^{1,2}

philippe.gerard@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

² AgroParisTech, UMR Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

³ INRA, UMR1313 GABI, Plateforme de Microgénomique expressionnelle "Iso Cell Express" (ICE), F-78350 Jouy-en-Josas, France

⁴ INSERM U773, UFR de Médecine Paris Diderot, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France.

⁵ INSERM, U996, IPSIT, Clamart, F-92140, France ;

⁶ Université Paris-Sud, Faculté de médecine Paris-Sud, Kremlin-Bicêtre, F-94270, France ;

⁷ AP-HP, Hôpital Antoine Bécère, Service d'hépatogastroentérologie, Clamart, F-92140, France

L'obésité est fréquemment associée à des désordres métaboliques tels que l'insulino-résistance ou des pathologies hépatiques. Afin de démontrer l'implication du microbiote dans le développement de ces désordres métaboliques, nous avons utilisé une stratégie basée sur la transplantation de microbiotes chez des souris sans germe (dépourvues de microbiote intestinal).

Une cohorte de souris C57BL/6J conventionnelles a reçu un régime hyper-lipidique pendant 16 semaines. À l'issue de ces 16 semaines deux souris ont été sélectionnées sur la base de leur réponse au régime hyper-lipidique. Bien qu'elles aient pris le même poids, l'une, appelée répondeuse (R), présentait une hyperglycémie à jeun et un taux plasmatique élevé de cytokines pro-inflammatoires. L'autre, appelée non répondeuse (NR) n'avait pas développé ces anomalies métaboliques. Deux groupes de souris sans germe ont alors été colonisés avec les microbiotes des souris R et NR avant de recevoir le même régime hyperlipidique pendant 16 semaines.

À l'issue de ces 16 semaines, les deux groupes de souris receveuses présentaient une obésité similaire. Cependant le groupe associé au microbiote R avait développé une hyper-glycémie et une hyper-insulinémie tandis que les souris associées au microbiote NR restaient normo-glycémiques. De même, l'analyse histologique a révélé une stéatose plus importante dans le groupe associé au microbiote R, confirmée par une concentration de triglycérides plus élevée dans le foie de ces souris. L'analyse de l'expression de gènes hépatiques a montré que cette stéatose plus importante pouvait s'expliquer par une expression accrue de gènes impliqués dans la lipogenèse de novo. L'analyse de la composition du microbiote intestinal par pyroséquençage du gène de l'ARNr 16S a permis de montrer que les deux groupes de souris hébergeaient des microbiotes distincts aboutissant à l'identification de phyla, genres et espèces différenciellement représentés.

Nous avons ainsi démontré qu'il est possible de transmettre la susceptibilité aux atteintes métaboliques et hépatiques induites par un régime hyper-lipidique par un transfert de microbiote. Ces résultats pourraient ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques basées sur la modulation du microbiote intestinal.

Mots-clés : microbiote intestinal, obésité, diabète, foie, souris sans germe

P55 - How *Bacillus cereus* bacteria escape from macrophages ?

Abbass Haydar, Didier Lereclus, Nalini Rama Rao
abbass.haydar@hotmail.com

Poster
Doctorant

INRA, UMR 1319 Unité Micalis. La Minière 78280 Guyancourt

Bacillus cereus (Bc) is the fourth cause of food-borne intoxications in France. During infection, the spores of Bc are phagocytosed by the macrophages of the host, but they are able to resist and escape from the macrophage (1).

The work realized in our laboratory showed that two metalloproteases InhA1 and NprA represent almost all proteins secreted in poor medium (2). Our results show that the proteins inhA1 and NprA induce the escape of Bc from the macrophage and may act independently or together (2). An analysis of protease activity of both proteins and the presence of an N-terminal pro-peptide cleavable in the NprA (60KDa) protein suggests that InhA1 could cleave and activate NprA.

The analysis of the proteins found in the BC supernatant showed that the quantity of the 60 KDa –NprA form is more important in the $\Delta inhA1$ mutant than in the wild strain, and that the quantity of a 35 KDa – NprA form is more important in the wild strain. Further biochemical analyses show that InhA1 is able to cleave NprA from the 60 KDa to the 35 KDa form. The 35 KDa form of NprA could be the active form.

Références bibliographiques :

- 1- Ramarao, N., and Lereclus, D. (2005) The InhA1 metalloprotease allows spores of the *B. cereus* group to escape macrophages. *Cell Microbiol* 7: 1357-1364.
- 2- Perchat, S., T. Dubois, S. Zouhir, M. Gominet, S. Poncet, C. Lemy, M. Aumont-Nicaise, J. Deutscher, M. Gohar, S. Nessler, and D. Lereclus. 2011. A cell-cell communication system regulates protease production during sporulation in bacteria of the *Bacillus cereus* group. *Mol Microbiol* 1365:2958.2011

Mots-clés : *Bacillus cereus*, macrophage, metalloprotease InhA and NprA.

P56 - Rôle de BamB et son interaction avec BamA dans la biogenèse de la membrane externe, l'expression des T3SS et la virulence chez *Salmonella*

Genaro Alejandro Hurtado Escobar, Fatémeh Namdari, Nadia Abed,
Jérôme Trotereau, Yann Fardini, Etienne Giraud,
Philippe Velge et Isabelle Virlogeux-Payant

Poster
Doctorant

genaro.hurtado@tours.inra.fr

INRA, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, Nouzilly, France

Université François Rabelais de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, Tours, France

Le repliement puis l'insertion des protéines à tonneaux β dans la membrane externe des bactéries est médié par le complexe Bam constitué par la protéine centrale BamA et par 4 lipoprotéines BamB-BamE. BamB interagit directement avec BamA et est impliquée dans plusieurs processus biologiques : l'assemblage des protéines de membrane externe (OMPs) et la perméabilité, le contrôle de l'expression de systèmes de sécrétion de type 3 (T3SS) et enfin la virulence chez *Salmonella* en modèles murin et aviaire. Pour déterminer s'il existe une relation entre ces différentes fonctions et si l'interaction entre BamB et BamA est requise pour chacune d'elle, des plasmides contenant des mutations ponctuelles dans *bamB* ont été introduits dans un mutant $\Delta bamB$ de *Salmonella*. Nous démontrons que l'association de résidus L173, L175 et R176 est essentielle à tous les rôles de BamB et à son interaction avec BamA. De plus, des résultats obtenus avec le variant BamB D229A qui est incapable d'immunoprécipiter BamA montrent que l'interaction entre BamA et BamB n'est pas requise pour l'assemblage des OMPs, l'expression des T3SS et la virulence. Enfin le variant BamB D227A restaure complètement la virulence du mutant $\Delta bamB$ mais conserve les mêmes défauts de perméabilité membranaire que ce dernier indiquant que le défaut de virulence du mutant n'est pas relié à sa sensibilité accrue aux antimicrobiens. En conclusion, au moins certains rôles de BamB sont dissociables et l'association de BamB avec le complexe Bam n'est pas indispensable à son activité. Par ailleurs, de part leur essentialité, les résidus L173, L175 et R176 constituent un site privilégié pour le développement d'inhibiteurs de BamB comme alternative thérapeutique aux antibiotiques.

Mots-clés : *Salmonella*, T3SS, virulence, complexe Bam, OMPs

P57 - Influence du microbiote intestinal humain sur la synthèse de shiga toxine par les *Escherichia coli* entérohémorragiques : caractérisation de molécules inhibitrices

Grégory Jubelin¹, Charlotte Cordonnier¹, Annie Garrivier¹, Christine Martin¹

gregory.jubelin@clermont.inra.fr

¹ INRA, UR454 Unité de microbiologie, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) sont des pathogènes émergents responsables de toxico-infections alimentaires chez l'homme. Les symptômes associés à l'infection correspondent à des diarrhées et pour certains patients, à des atteintes systémiques potentiellement mortelles tel que le syndrome hémolytique et urémique. Après ingestion d'aliments contaminés, les EHEC se retrouvent dans le tractus digestif de l'homme et vont produire un ensemble de facteurs de virulence dont les Shiga toxines (Stx), responsables des principaux symptômes de l'infection. Aucun traitement efficace n'existe à ce jour et la prise en charge des patients reste uniquement symptomatique. Ainsi, il apparaît essentiel de caractériser les facteurs intestinaux qui modulent l'expression de Stx chez l'hôte infecté. Nous avons récemment montré que la bactérie commensale *Bacteroides thetaiotaomicron* synthétise des molécules qui inhibent la production de Stx2 par plusieurs souches d'EHEC appartenant à des sérotypotypes distincts [1]. Ces molécules ont été caractérisées comme étant thermorésistantes et d'une taille inférieure à 3 kDa mais ne correspondent pas aux acides gras volatils produits par *B. thetaiotaomicron* (acétate, propionate) puisque ces derniers n'influencent pas la production de Stx2. Afin d'identifier ces molécules, une approche génétique visant à cribler une banque de mutants de *B. thetaiotaomicron* a été mise en place au laboratoire. Parmi les 2500 mutants criblés, 4 mutants ne répriment plus la synthèse de Stx2 et sont actuellement en cours d'exploitation. Ces travaux devraient permettre d'une part de mieux caractériser les interactions entre EHEC et microbiote intestinal et d'autre part d'envisager des solutions préventives contre les infections à EHEC chez l'homme.

Références bibliographiques :

1. de Sablet, T., et al., *Human microbiota-secreted factors inhibit shiga toxin synthesis by enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7*. Infect Immun, 2009. **77**(2): p. 783-90.

Mots-clés : EHEC, *Bacteroides thetaiotaomicron*, microbiote intestinal, Shiga toxine, pathologie digestive

P58 - Phenotypic differentiation between pathogenic and non-pathogenic *B. cereus* strains: towards the development of new identification and detection tools.

Rita Kamar^{1,2}, Isabelle Jehanno¹, Agnès Réjasse¹,
Michel Gohar¹, Didier Lereclus¹, Mireille Kallassy Awad²,
Nalini Ramarao¹ and Vincent Sanchis¹

Poster
Doctorant

rita.kamar@jouy.inra.fr, vincent.sanchis@jouy.inra.fr

¹INRA, Unité MICALIS UMR-1319, La Minière, 78280 Guyancourt, France.

² Laboratoire de Biotechnologie, Faculté des Sciences, Université Saint-Joseph de Beyrouth. B. P 11-514 Riad el Solh, Beirut 1107 2050, Liban.

The *B. cereus sensu lato* group is composed of a large number of endospore-forming bacteria that are widely distributed in the environment. Many strains, within the *B. cereus* group, are recurrent contaminants at various stages of the food chain and opportunistic pathogens of the gastrointestinal tract of humans and animals. However, all bacterial strains do not have the same capacity to induce disease and the spectrum of *B. cereus* pathogenic potential ranges from strains used as probiotics for humans to highly toxic lethal strains. Therefore, the *B. cereus* group is complex, and the distinction between hazardous and non-hazardous strains is far from clear. *B. cereus* pathogenicity presumably depends on its ability to colonize and persist in the host gut and then to invade tissues. This encompasses mechanisms for colonization (adherence and motility), production of extracellular substances that facilitate invasion or which act against the host by breaking down the primary defense mechanism against invading organisms. However, there is currently no specific markers or diagnostic tools to properly differentiate pathogenic from harmless strains.

The objective of this work was to develop new methods/criteria for the identification of pathogenic strains. For this purpose 54 strains of *B. cereus* of various origins, and belonging to different genetic groups (groups 2-7) (Guinebretière *et al.*, 2008) were analyzed for different colonization and virulence phenotypic criteria. All strains were classified within three groups: strains associated with food poisoning (15 isolates), strains associated with other clinical diseases (14 isolates from human samples) and strains not associated with diseases (25 isolates originating from the environment or from food samples with no collective foodborne poisoning history) (Cadot *et al.*, 2010). Six phenotypes were tested: epithelial cell adhesion, mobility, biofilm formation, cytotoxicity, resistance to polymyxin B and virulence against an insect model: *Galleria mellonella*.

We found significant differences between non-pathogenic strains and strains responsible of food-poisoning or other severe infections. Statistical analyzes revealed correlations between some phenotypes and a principal component analysis led to subdivide the strains in two distinct subpopulations. This work shows that a set of phenotypic traits related to pathogenicity can discriminate strains with an history of infectious disease from strains without history. It also suggests a possible genetic basis for these differences in virulence.

Références bibliographiques :

Cadot, C., S. L. Tran, M. L. Vignaud, M. L. De Buyser, A. B. Kolsto, A. Brisabois, C. Nguyen-The, D. Lereclus, M. H. Guinebretière & N. Ramarao, (2010) *InhA1*, *NprA*, and *HlyII* as candidates for markers to differentiate pathogenic from nonpathogenic *Bacillus cereus* strains. *J. Clin. Microbiol.*, 48: 1358-1365.

Guinebretière MH, Thompson F, Sorokin A, Dawyndt P, Ehling-schulz M, Svensson B, Sanchis V, Nguyen-The C, Heyndrickx M, De Vos P. (2008). Ecological diversification in the *Bacillus cereus* group. *Environ. Microbiol.*, 10: 851-865.

Mots-clés : *B. cereus*, adhesion, motility, cytotoxicity, antimicrobial peptides, biofilm, virulence, pathogenicity

P59 - Impact de l'âge et du microbiote sur l'expression intestinale des défensines chez les oiseaux

Anne-Christine Lalmanach^{1,2}, Djihad Bencherit^{1,2}, Hélène Marty^{1,2}, Angéline Trotereau^{1,2}, Nathalie Chanteloup^{1,2}, Annie Brée^{1,2}, Catherine Schouler^{1,2}

Anne-Christine.Lalmanach@tours.inra.fr

¹ INRA, UMR 1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly, France.

² Université François Rabelais de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37000 Tours, France.

Les défensines aviaires appartiennent à la grande famille des peptides antimicrobiens qui sont des composants clés de l'immunité innée des muqueuses ^[1]. Ces molécules peuvent être produites par les granulocytes et les cellules épithéliales ^[2]. Elles peuvent être purifiées à partir de la moelle osseuse du poulet et sont actives contre un panel de souches bactériennes Gram+ et Gram- ^[3]. L'expression des gènes des deux défensines aviaires majeures (*AvBD1* et *AvBD2*) dans le tissu intestinal est corrélée à la résistance de l'hôte contre la colonisation des salmonelles ^[4]. Tandis que cette expression peut s'observer à la naissance, son évolution au cours des premières semaines de vie reste méconnue ^[5, 6]. De façon à évaluer l'influence de l'âge et du microbiote intestinal, nous avons comparé les profils d'expression de ces deux défensines dans le tissu intestinal de poussins axéniques ou conventionnels pendant les deux premières semaines post-éclosion. La cinétique d'expression d'*AvBD1* est apparue différente de celle d'*AvBD2*, indépendamment du statut microbiologique des poussins. Selon la localisation anatomique, le niveau d'expression d'*AvBD1* est apparu modulé positivement dans l'ileum ou négativement dans le caecum par la présence du microbiote. La composition du microbiote étant connue comme différente entre ces deux parties de l'intestin, des travaux futurs utilisant des poussins monoxéniques pourraient permettre d'identifier les espèces bactériennes commensales influençant l'expression de ce peptide antimicrobien.

Références bibliographiques :

- [1] VanDijk *et al.*, Veterinary Immunology and Immunopathology 124 (2008) 1-18.
- [2] Derache *et al.*, Developmental and Comparative Immunology 33 (2009) 959-966.
- [3] Derache *et al.*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 53 (2009) 4647-4655.
- [4] Sadeyen *et al.*, Microbes and Infection 8 (2006) 1308-1314.
- [5] Bar-Shira and Friedman, Developmental and Comparative Immunology 30 (2006) 930-941.
- [6] Crhanova *et al.*, Infection and Immunity 79 (2011) 2755-2763.

Mots-clés : defensins, *Gallus gallus*, intestinal immunity, microbiota

P60 - *In silico* identification and functional characterization of regulatory motifs in *Phytophthora parasitica* biofilm-expressed genes

Marie Larousse, Benoît Industri, Catherine Mura, Michel Ponchet,

Franck Panabières & Eric Galiana

galiana@sophia.inra.fr

Poster
Doctorant

INRA-UMR 1301 Interactions Biotiques et Santé Végétale, 06903 Sophia Antipolis, France

In the oomycete *Phytophthora parasitica*, biofilm formation on host plant surfaces results in coordinated behaviour of flagellated zoospores. In a density dependent manner, cells adhere locally, aggregate and germinate forming a microcolony and then a biofilm. Transcriptomic studies of the microcolony stage revealed as a characteristic event, the expression of members of the *PPMUCL* (*Phytophthora Parasitica Mucin Like*) gene family that encode highly glycosylated and secreted proteins. The aim of this work is to analyze *cis* regulation of *PPMUCL* gene expression during formation of the biofilm structure. The kinetics pattern of *PPMUCL1/2/3/4* mRNAs accumulation in *P. parasitica* microcolonies were investigated using real-time PCR and *in situ* hybridization analyses. The expression of *PPMUCL1/2/3* was found highly co-regulated 2-4 hours after the initiation of biofilm formation. The *PPMUCL1* mRNA was detected in the whole structure with an apparent higher accumulation in the founder cells zone. The *PPMUCL* genes were found to be only marginally expressed during asexual or infectious cycles. Computational research of *cis*-regulatory elements led to characterize conserved sequences among the promoter regions of co-regulated *PPMUCL* genes. One putative *cis*-regulatory DNA element, designated R, was overrepresented in the promoters of *PPMUCL1/2/3*. Using the electrophoretic mobility shift assay (EMSA), R was found to be specifically recognized by nuclear proteins from microcolonies suggesting that R is a consensus binding site for regulatory proteins. This work contributes to the definition of transcriptional regulatory networks that regulate the co-expression of *PPMUCL* genes and to the characterization of early cellular responses that govern biofilm formation in an oomycete.

Mots-clés : Biofilm, Oomycete-Plant interaction, Mucin-like genes, cis-coregulation,

P61 - Caractérisation des glycosides hydrolases appartenant au système d'exploitation du N-acétylglucosamine chez *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Alice Boulanger¹, Thomas Dugé de Bernonville¹, Laetitia Ligat², Stéphanie Cony², Brice Roux¹, Alexandre Mares², Guillaume Déjean¹, Pauline Rival¹, Claudine Zischek¹, Martine Lautier^{1,3}, Cécile Albenne², Elisabeth Jamet², Laurent Noël¹, Matthieu Arlat^{1,3} et **Emmanuelle Lauber¹**

elauber@toulouse.inra.fr

1. INRA, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR 441, F-31326 CASTANET-TOLOSAN, France.
CNRS, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR 2594, F-31326 CASTANET-TOLOSAN, France.
2. CNRS, Laboratoire de Recherches en Sciences Végétales (LRSV), UMR 5546, Chemin de Borde Rouge, BP42617, F-31326, CASTANET-TOLOSAN, France.
UPS, Université de Toulouse, UMR 5546, Chemin de Borde Rouge, BP42617, F-31326, CASTANET-TOLOSAN, France.
3. UPS, Université de Toulouse, 118 route de Narbonne, F-31062, TOULOUSE, France.

Au cours de son cycle de vie, la bactérie phytopathogène *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) se retrouve dans des habitats où les sources en nutriments sont particulièrement pauvres. Afin de pallier ce déficit, cette bactérie a mis en place des systèmes d'exploitation de carbohydrates nommés systèmes CUT (carbohydrate utilization systems containing TonB-dependent transporters/TBDTs), qui ont la particularité de faire intervenir des transporteurs actifs et sélectifs, les TBDTs, pour le passage des nutriments à travers la membrane externe (Blanvillain *et al.*, 2007). Xcc possède des systèmes CUT impliqués dans l'utilisation de composés de la plante tels que le saccharose, le xylane, la pectine ou encore le N-acétylglucosamine (NAG).

Les gènes appartenant au système d'exploitation du NAG ont été identifiés (Boulanger *et al.*, 2010). Outre les gènes classiquement identifiés dans les systèmes CUT (gènes codant pour des répresseurs, des TBDTs, un transporteur de la membrane interne et des enzymes du catabolisme du NAG), ce système contient 8 gènes codant pour des glycosides hydrolases dont les activités ont été proposées sur la base des homologies de séquence et des domaines fonctionnels. Les activités enzymatiques des protéines codées par ces gènes ont été validées en utilisant des substrats synthétiques. Des expériences préliminaires suggèrent qu'une cible naturelle potentielle de ces enzymes serait les N-glycanes des protéines N-glycosylées. Par ailleurs, une de ces enzymes est impliquée dans l'utilisation des chito-oligosaccharides comme source de carbone. Enfin, ces enzymes interviennent dans l'utilisation du NAG au cours de l'infection. Le rôle du système d'exploitation du NAG au cours de l'interaction avec la plante sera discuté.

Références bibliographiques :

- Blanvillain S., Meyer D., Boulanger A., Lautier M., Guynet C., Denancé N., Vasse J., Lauber E., and Arlat M. Plant Carbohydrate Scavenging through TonB-Dependent Receptors: a Feature Shared by Phytopathogenic and Aquatic Bacteria. 2007. *PLoS ONE*, 2(2): e224. doi:10.1371/journal.pone.0000224.
- Boulanger A., Déjean G., Lautier M., Glories M., Zischek C., Arlat M. and Lauber E. Identification and regulation of the N-acetylglucosamine utilization pathway of the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. 2010. *J. Bacteriol.*, 192, 1487-97.

Mots-clés : *Xanthomonas*, N-acétylglucosamine, N-glycanes, plante, transporteur TonB-dépendant, CUT locus

P62 - Étude du potentiel probiotique de *Lactobacillus salivarius* smxd51, souche isolée de caecum de poulet à activité anti-*Campylobacter*

Soumaya Messaoudi^{1,2,4}, A. Madi³, M. Feuilloy³, H. Prévost^{1,2}, M. Manai⁴, N. Connil³ & X. Dousset^{1,2}

soumaya.messaoudi@oniris-nantes.fr

1 LUNAM Université, Oniris, UMR1014 Secalim, BP82225, Nantes, France.

2 INRA, Nantes, France

3 Laboratoire de Microbiologie du Froid, Signaux et Microenvironnement, Evreux, France.

4 Faculté des Sciences de Tunis, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, El Manar 2092, Tunisie

Lactobacillus salivarius SMXD51 a été isolé à partir de caeca de poulets tunisiens et identifié par séquençage du gène ADNr 16S (Messaoudi et al, 2011). Elle produit une bactériocine active contre *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 (Messaoudi et al, 2012), bactérie commensale de la volaille pouvant être pathogène pour l'homme. Ceci lui confère un intérêt indéniable pour son utilisation potentielle en tant que probiotique dans l'alimentation du poulet.

Différentes caractéristiques probiotiques de la souche *Lb. salivarius* SMXD51 ont été évaluées (innocuité, capacité d'adhésion, résistance au pH acide et aux sels biliaires). Les résultats ont montré que *Lb. salivarius* SMXD51 possède une bonne capacité d'adhésion aux cellules entérocytaires Caco-2/TC7 et une forte résistance au pH acide et aux sels biliaires qui constituent des facteurs favorables à la survie et l'implantation d'une bactérie probiotique dans l'estomac et l'intestin.

L'utilisation de cellules Caco-2/TC7 différenciées cultivées sur inserts, nous a permis de montrer qu'un prétraitement des cellules Caco-2/TC7 par *Lb. salivarius* SMXD51 est capable de limiter l'altération de l'épithélium par *P. aeruginosa* PAO1. Un marquage à la phalloïdine suivi d'une observation au microscope confocal a permis de mettre en évidence que *Lb. salivarius* SMXD51 renforce la barrière intestinale grâce au maintien de l'organisation des filaments d'actine-F du cytosquelette. Par ailleurs, *Lb. salivarius* SMXD51 est capable d'induire la production de β -défensine-2 (hBD-2) et d'interleukine-8 et donc de stimuler le système de défense immunitaire de l'hôte. L'ensemble de ces résultats confirme le caractère potentiellement probiotique de *Lb. salivarius* SMXD51.

Mots clés : *Campylobacter*, bactéries lactiques, poulet, bactériocine, probiotique

P63 - Regulation of glucose transport and glucose-mediated virulence gene repression in *Listeria monocytogenes*

Eliane Milohanic, Francine Aké, Philippe Joyet and Josef Deutscher

eliane.milohanic@grignon.inra.fr

INRA, UMR1319 MICALIS, F-78850 THIVERVAL-GRIGNON, France
AgroParisTech, UMR MICALIS, F-78850 THIVERVAL-GRIGNON, France

Listeria monocytogenes possesses several glucose/mannose-transporting phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase systems (PTS). The main glucose transporter is encoded by the *manLMNO* operon, the expression of which is inducible and primarily regulated by ManR, a LevR-like transcription activator containing, in addition to the DNA binding motif, EII domains and PTS regulation domains (PRD). The *manR* gene is located upstream from a constitutively expressed *mpoABCD* operon encoding a second low affinity glucose PTS. The PTS^{Mpo} controls the activity of ManR by direct phosphorylation as well as by phosphorylation-dependent interaction with ManR. Phosphorylation by the PTS proteins enzyme I (EI) and HPr in PRD1 stimulates ManR activity, whereas phosphorylation by EI, HPr, EIIA^{Mpo} and EIIB^{Mpo} in PRD2 inhibits ManR function. The latter ManR phosphorylation is diminished when glucose is present and therefore serves as induction mechanism of the *manLMNO* operon. In addition, some genetic data suggested that EIIB^{Mpo} in its unphosphorylated form would be necessary to render ManR fully active. The stimulating effect of unphosphorylated EIIB^{Mpo} on ManR activity is probably mediated by direct interaction with one of the regulatory domains in ManR, most likely the EIIA^{Man}-like domain. Interestingly, deletion of *ptsI*, *manL*, *manM* or *mpoB* causes elevated PrfA-mediated virulence gene expression. The PTS^{Man} is the major player in glucose-mediated PrfA inhibition because the *mpoA* mutant showed normal PrfA activity. The four mutants showing PrfA derepression contain no or only little unphosphorylated ManL (EIIABMan), which probably plays a central role in glucose-mediated PrfA regulation.

Mots-clés : *Listeria monocytogenes*, phosphotransferase system, glucose transport, PrfA, virulence

P64 - Does Fgap1 regulate Tri gene expression and trichothecene B production in response to oxidative stress in *Fusarium graminearum*?

Mathilde Montibus, Enric Zehraoui, Nadia Ponts, Florence Forget and Christian Barreau.

mathilde.montibus@bordeaux.inra.fr

Poster
Doctorant

INRA, UR1264 MycSA, BP81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France.

The filamentous fungus *Fusarium graminearum* is one of the main causal agents of “Fusarium Head Blight” and “Maize Ear Rot”. During infection, *F. graminearum* can produce trichothecene mycotoxins that accumulate in the grains. The pathway involving specific *Tri* genes responsible for toxin biosynthesis has been elucidated. However, mechanisms that could regulate the toxin biosynthesis remain largely enigmatic. We previously showed that in liquid cultures, toxin production and *Tri* gene expression are enhanced when *F. graminearum* is submitted to an oxidative stress with H₂O₂ (Ponts et al, 2007, FEBS Lett 581: 443-447). Here, we investigate the factors involved in such a regulation.

In *Saccharomyces cerevisiae*, the response to an oxidative stress involves genes coding for detoxification enzymes such as catalase or superoxide dismutase, whose expression is under the control of the transcription factor Yap1p. In the present study, we analysed the role of Fgap1, the *F. graminearum* homologue of Yap1p, in response to an oxidative stress and showed its involvement in the regulation of trichothecene production. The Δ Fgap1 deleted mutant and an Fgap1c strain expressing a constitutively activated form of Fgap1 were constructed. The growth of the mutants was analysed in different stressing conditions (sorbitol, sodium chloride, oxidants or cadmium). Finally, accumulation of toxins was measured for the wild-type strain and the mutants grown in GYEP liquid medium supplemented with 0.5 mM H₂O₂. Expression profiles of genes encoding the detoxification enzymes and of *Tri* genes were followed by Q-RT-PCR. The results strongly suggest the involvement of Fgap1 both in the stress induced response pathways and in the regulation of trichothecene biosynthesis.

Références bibliographiques :

Ponts et al, 2007, FEBS Lett 581: 443-447

Mots-clés : *Fusarium graminearum*, Tri genes, trichothecenes, oxidative stress, Fgap1

P65 - Bistabilité et résistance aux peptides antimicrobiens chez la bactérie pathogène d'insectes *Photorhabdus*.

Annabelle Mouammine, Anne Lanois, Alain Givaudan

Annabelle.mouammine@etud.univ-montp2.fr

INRA, URM1333 - UM2 DGIMI, Université Montpellier 2 cc054, 34095 Montpellier cedex 05, France

Photorhabdus luminescens est une entérobactérie symbiotique d'un nématode pathogène d'insectes. Elle vit dans l'intestin du nématode et est relarguée dans le sang (hémolymphe) des insectes après infestation. L'insecte produit alors des peptides antimicrobiens cationiques (PAMs) pour se défendre. Toutefois, la bactérie résiste et tue l'insecte en 33 heures.

La résistance aux PAMs chez *Photorhabdus* est contrôlée par le système à deux composantes PhoP-PhoQ⁽¹⁾. PhoP est impliqué dans la régulation de l'expression de l'opéron *pbgPE*⁽²⁾ responsable de la modification du LPS.

Des antibiogrammes et des étalements de la souche sauvage en présence ou non de polymyxine B, ont montré que la majeure partie de la population est sensible et qu'une faible proportion de bactérie (2%) est résistante.

La construction d'une fusion transcriptionnelle entre le promoteur de l'opéron *pbgPE* et une GFP et l'utilisation de la cytométrie en flux nous a permis de suivre l'expression du gène de résistance à l'échelle de la cellule bactérienne. En présence de polymyxine B, nous constatons que le nombre de bactéries GFP positives croît d'un facteur 2 à 3. De même, on dénombre en RT-qPCR environ 10 fois plus de transcrits du gène *pbgP* dans notre population dans la condition avec polyB. Nous avons donc démontré que la polyB sélectionne les cellules bactériennes exprimant *pbgP* et nos premiers résultats corroborent l'existence de deux sous-populations clonales stables chez *Photorhabdus luminescens*. Le rôle de cette sous-population résistante reste à caractériser *in vivo* afin de vérifier que c'est elle qui est capable de survivre, se multiplier et tuer l'insecte.

Références bibliographiques :

- 1- Derzelle et al, 2004, The PhoP-PhoQ two-component regulatory system of *Photorhabdus luminescens* is essential for virulence in insects, J. bacteriology
- 2- Bennett HP et al, 2005, The *pbgPE* operon in *Photorhabdus luminescens* is required for pathogenicity and symbiosis, J. bacteriology

Mots-clés : bistabilité, résistance, *Photorhabdus*, peptides anti-microbiens.

P66 - Analyse du génome d'une souche bactérienne entomopathogène appartenant à l'espèce *Xenorhabdus poinarii*

Jean-Claude Ogier¹, Sylvie Pages¹, Patrick Tailliez¹, Gaelle Bisch¹, Corine Teyssier², Sébastien Carrère³, Claudine Medigue⁴, Zoé Rouy⁴, Alain Givaudan¹ et Sophie Gaudriault¹

Jean-Claude.Ogier@univ-montp2.fr

¹ UMR1333 INRA-UM2 DGIMI, Université Montpellier 2 cc054, 34095 Montpellier cedex 05, France

² UMR5119 Ecosym, Equipe Pathogènes et Environnements, Université Montpellier 1, Faculté de Pharmacie, 15 Avenue Charles Flahault, BP 14491, 34093 Montpellier Cedex 5, France

³ INRA/CNRS, Laboratoire Interactions Plantes Micro-organismes UMR441/2594, F-31320 Castanet Tolosan, France

⁴ CEA, Genoscope & CNRS-UMR 8030, Laboratoire d'Analyse Bioinformatique en Génomique et Métabolisme, Evry cedex F-91006, France

Xenorhabdus poinarii est une bactérie entomopathogène qui vit en symbiose avec le nématode *Steinernema glaseri*. L'association est capable de parasiter et tuer des insectes, en particulier un grand nombre de coléoptères. Le nematode *S. glaseri* a été isolé pour la première fois en 1930 dans un cadavre de larve de scarabée du japon (*Popillia japonica*) (Glaser & Fox, 1930) et c'est le premier nématode qui a été proposé comme agent de lutte biologique contre les insectes (Glaser, 1932). Nous avons séquencé en 2009 la souche *X. poinarii* G6 qui a été isolée par Akhurst en 1982 suite à une prospection en Caroline du Nord (USA). La taille du génome est de 3,6 Mb, ce qui constitue le plus petit génome d'une bactérie entomopathogène du genre *Xenorhabdus* (0,5 à 1 Mb en moins). Nous avons constaté par ECP que ce génome réduit était retrouvé chez 5 autres souches disponibles de *X. poinarii* (souches pourtant très variables par leur origine géographique). Le génome de *X. poinarii* présente globalement des caractéristiques générales similaires aux autres souches séquencées de *Xenorhabdus* (Chaston *et al.*, 2011), et ne présente pas les caractéristiques de réduction génomique décrites chez les bactéries endosymbiontes des insectes. Le génome de *X. poinarii* est cependant moins riche en facteurs de virulence connus que d'autres espèces de *Xenorhabdus*, ce qui pourrait expliquer pourquoi cette bactérie est moins virulente que ses consœurs lorsqu'elle est injectée seule dans l'hémolymphe des insectes. Quelques hypothèses pour expliquer cette réduction génomique chez *X. poinarii* sont actuellement testées, et ce travail devrait à terme permettre de mieux comprendre l'histoire évolutive des bactéries entomopathogènes.

Références bibliographiques :

Glaser, R. W. & Fox, H. (1930). A nematode parasite of Japanese beetle (*Popillia japonica* Newm.). Science 70:16-17.

Glaser, R. W. (1932). Studies on *Neoaplectana glaseri*, a nematode parasite of Japanese beetle (*Popillia japonica*). New Jersey Department of Agriculture, Circular No. 211.

Chaston *et al.* (2011). The entomopathogenic bacterial endosymbionts *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: convergent lifestyles from divergent genomes, Plos One 2011;6(11):e27909

Mots-clés : *Xenorhabdus*, entomopathogène, génome, interaction

P68 - Molecular and phenotypic comparison of two *Staphylococcus aureus* strains associated to severe or mild mastitis in cows

Vincent Peton^{1,2}, Damien Bouchard^{1,2}, Sintia Almeida^{1,2}, Julien Jardin^{1,2},
Caroline Le Maréchal^{1,2}, Anderson Miyoshi³, Vasco Azevedo³,
Nadia Berkova^{1,2}, Lucie Rault^{1,2}, Patrice François⁴, Jacques Schrenzel⁴,
David Hernandez⁴, Sergine Even^{1,2} and Yves Le Loir^{1,2}

Poster
Doctorant

yves.leloir@rennes.inra.fr

¹ INRA, UMR1253 STLO, Rennes, France;

² AgrocampusOuest, UMR1253 STLO, Rennes, France;

³ UFMG, ICB, Depto. de BiologiaGeral, Belo Horizonte, MG, Brazil;

⁴ Genomic Research Laboratory, Service of Infectious Diseases; University of Geneva Hospitals (HUG), Geneva, Switzerland

Staphylococcus aureus is an opportunistic pathogen in humans and warm-blooded animals. In milk production, it is a main cause of mastitis in dairy ruminants, which induces huge economical loss. In this work, *S. aureus* strains RF122 and Newbould305, responsible for severe or mild mastitis, were compared at the genome scale. Whole Genome PCR Scanning and Comparative Genome Hybridization showed that RF122 (ST151) was closely related to ovine strains whereas Newbould305 (ST115) co-clustered with bovine isolates (J.Bact. 2008. 190(19):6302). The goal of this work was to identify staphylococcal factors explaining the differences of clinical signs and mastitis acuteness observed during infections with these strains. We compared the two strains, *in silico* and *in vitro*, at the genome, proteome and phenotype levels. The genome of *S. aureus* Newbould305 was sequenced using an Illumina Genome Analyzer. A total of 2752 coding sequences were detected and Newbould305 sequence was compared to that of RF122, which is publicly available. The overall Newbould305 genome shares high similarity with that of RF122. A majority of genes (n= 1819) were common to both strains. Proteome analysis of supernatant, cell wall and total cell fractions was carried out in conditions mimicking the mastitis context and results lead to an additional characterization at the phenotype level. Efficiency of adhesion and internalisation of both strains were tested and compared *in vitro* on bovine mammary epithelial cells (MAC-T). The values for adhesion and internalization showed significantly higher rates for Newbould305 with differences of up to 1 order of magnitude in adhesion and 1.5 orders of magnitude for internalization. However, once internalized, intracellular survival appeared identical for both strains. This work provides targets for further investigations, especially to determine whether the differences observed at these initial steps of infection are indeed critical for the development and severity of cow mastitis.

Mots-clés : *Staphylococcus aureus*, mastitis, cow, virulence

P69 - *Staphylococcus aureus* alters cell cycle in human and bovine epithelial cells.

Alekseeva Ludmila¹, Rault Lucie^{2,3}, **Vincent Peton**^{2,3}, Almeida Sintia^{2,3,4},

Cousin Fabien J.^{2,3}, Legembre Patrick⁵, Edmond Valérie⁵,

Azevedo Vasco⁴, Miyoshi Anderson⁴, Even Sergine^{2,3},

Taieb Frédéric⁶, Arlot-Bonnemains Yannick⁷,

Le Loir Yves^{2,3}, Berkova Nadia^{2,3}

nadia.berkova@rennes.inra.fr

Poster
Doctorant

1. Shemyakin and Ovchinnikov IBCH, RAS; Moscow, Russian Federation

2. INRA, UMR1253 STLO, F-35042 Rennes, France

3. Agrocampus Ouest, UMR1253, STLO, F-35042 Rennes, France

4. ICB-UFMG, CEP 31.270-901. Belo Horizonte- MG, Brazil

5. IRSET, U1085, Université Rennes-1, 35043 Rennes, France

6. INRA, USC U1043 INSERM, Toulouse, F-31300, France

7. CNRS-UMR 6290, BIOSIT, Université Rennes-1, 35043 Rennes, France.

Staphylococcus aureus can cause a wide range of infections in humans and warm-blooded animals. The epithelial surface is the principal site of staphylococcal infection. The goal of this work was to investigate the cytopathic effect of *S. aureus* and its ability to affect host cell cycle. Cultures of human cervix cancer HeLa and mammary gland bovine MAC-T epithelial cells were used to study *in vitro* the effects of *S. aureus* strains from human or ruminant origins. Using microscopic examination, we found that *S. aureus* induced an enlargement of the host cells and we observed that *S. aureus* slowed down cell proliferation. Similar effect was observed on both human and bovine cells using the human or the ruminant strains. Microscopic analysis of DAPI-stained cells revealed huge decrease of mitotic indexes in infected HeLa and Mac-T cells, synchronized by Double Thymidine Block. Flow cytometry analysis showed that *S. aureus* induces G2/M phase delay in synchronous HeLa cells. Western blot analysis revealed that the G2/M phase delay was associated with an accumulation of inactive phosphorylated cyclin-dependent kinase Cdk1/cdc2, a key inducer of mitosis entry, and dephosphorylation of core histone H3, an important component of the epigenetic landscape. Altogether, these results suggest that the delay in G2/M phase transition of the infected epithelial cells may be one of the mechanisms employed by *S. aureus* to survive and to propagate inside the host. Further investigations are ongoing to fully understand the mechanisms associated to this type of *S. aureus*-host cell interactions.

Mots-clés : *Staphylococcus aureus*, cell cycle, epithelial cells

P70 - Caractérisation de cycles épidémiologiques de *Borrelia burgdorferi* sl par approche moléculaire

Maude Pithon¹, Maxime Bisseux¹, Maud Marsot¹, Sébastien Maseglier¹,

Jean-Louis Chapuis², Gwenaél Vourc'h¹, Xavier Bailly¹

Poster
Doctorant

maude.pithon@clermont.inra.fr

1 : UR 346 INRA, Epidémiologie Animale, 63122 Saint Genès Champanelle

2 : UMR 7204 MNHN-CNRS-UP6, Conservation des espèces, restauration et suivi des populations, 61 rue Buffon, 75231 Paris cedex 05

La maladie de Lyme est une zoonose causée par différentes espèces du complexe *Borrelia burgdorferi* sl. Ces pathogènes transmis par des tiques infectent de nombreuses espèces hôtes, plus au moins distantes taxonomiquement. Dans ce contexte épidémiologique, il est important de définir les différents cycles de transmission des bactéries et de déterminer lesquels sont à l'origine du risque zoonotique.

Entre 2005 et 2010, des rongeurs de trois espèces (*Tamias sibiricus*, *Myodes glareolus*, *Apodemus sylvaticus*) ont été échantillonnés dans une forêt péri-urbaine. Pour environ 230 rongeurs infectés par *B. burgdorferi* sl, nous avons séquencé des amplifiats de deux gènes de ces pathogènes par une approche 454. Les deux marqueurs ne sont, *a priori*, pas soumis aux mêmes contraintes.

Le premier est le gène chromosomique *rpIB*. C'est un gène de ménage qui ne devrait pas subir les pressions de sélection exercées par les différents hôtes.

Le second est le gène *ospC*. situé sur un plasmide. Il code pour une protéine antigénique et son évolution est donc influencée par les pressions de sélection exercées par les systèmes immunitaires des hôtes.

Pour les deux espèces de *Borrelia* majoritairement retrouvées, *B. burgdorferi* ss et *B. afzelii*, et pour chacun des deux marqueurs séquencés, nous avons observé que les populations associées aux différents hôtes échantillonnés sont différenciées et forment des ensembles distincts. Ces résultats sont confrontés aux attentes vis-à-vis des approches d'épidémiologie moléculaire.

Mots-clés : *Borrelia*, hôtes, diversité, différenciation

P71 - Revisiting free-living and symbiotic transcriptomes of *Sinorhizobium meliloti* by RNA-seq and laser micro-dissection analyses.

Laurent Sauviac¹, Brice Roux¹, Erika Sallet¹, Nathalie Rodde¹, Françoise Jardinaud¹, Delphine Capela¹, Sandra Moreau¹, Olivier Catrice¹, Ton Timmers¹, Thomas Faraut², Fernanda de Carvalho-Niebel¹, Frédéric Debellé¹, Thomas Schiex³, Jérôme Gouzy¹, Pascal Gamas¹ and Claude Bruand¹

Laurent.Sauviac@toulouse.inra.fr

¹Laboratoire des Interactions Plantes Microorganismes (LIPM) CNRS-INRA, Chemin de Borde Rouge, CS 52627, 31326 Castanet-Tolosan cedex, France.

²INRA LGC Chemin de Borde Rouge CS 52627, 31326 Castanet-Tolosan cedex, France.

³INRA UBIA Chemin de Borde Rouge CS 52627, 31326 Castanet-Tolosan cedex, France.

Sinorhizobium meliloti is an alpha-Proteobacterium which can live either free in the soil, or in symbiotic association with legume plants such as *Medicago truncatula*. The *Sinorhizobium-Medicago* symbiosis culminates in the formation of new root organs, called nodules. Inside nodules, bacteria differentiate into bacteroids, specialized in the fixation of atmospheric nitrogen to the benefit of the host plant. Both nodule organogenesis and bacteroid differentiation are complex developmental processes which involve profound reprogramming of gene expression. To better understand these processes, we set up methods for simultaneous gene expression profiling of both bacterial and plant partners at different symbiotic stages. Here, we report the results of this work, with special emphasis on bacterial transcriptome analyses.

The *S. meliloti* transcriptome was determined in entire and laser-dissected root nodules (six successive stages of bacteroid differentiation/nodule development), as well as in free-living bacteria (cultures at two different growth stages). For this, we prepared rRNA-depleted transcript populations and developed strand-specific RNA-seq techniques. To provide a reliable framework for quantitative transcriptome analyses, we sequenced the genome of the *S. meliloti* strain 2011 and developed new bioinformatic tools (Eugene-P, Glint) to annotate the genome. This work led to the identification of protein-coding mRNAs as well as short non-coding RNAs not previously predicted. Deep RNA-sequencing made possible to detect even weakly expressed transcripts, while laser micro-dissection allowed a spatial view of gene expression. Taken together, the simultaneous analyses of bacterial and plant transcriptomes give a comprehensive and integrated view of bacterial and plant genes involved in the rhizobium-legume symbiosis.

Mots-clés : *Sinorhizobium meliloti*, *Medicago truncatula*, symbiosis, RNA seq, transcriptome, genome annotation

P72 - New mechanisms for "host iron" acquisition in *Bacillus cereus*

Diego Segond¹, E.Abi Khalil¹, C.Buisson¹, F.Bou Abdallah², M.Kallassy³, D.Lereclus¹,
C.Nielsen-LeRoux¹

diego.segond@jouy.inra.fr

¹INRA ,UMR 1319 Micalis, La Minière, 78650 Guyancourt cedex, France.

²Department of Chemistry, SUNY, Potsdam, NY 13676, USA.

³Laboratory of Biotechnology, Saint-Joseph University, Beyrouth, Lebanon.

Bacillus cereus is a Gram-positive bacterium, opportunistic pathogen for humans and frequently associated with food-borne infection. The ability of *B. cereus* to colonize the host (mammal or insect) is linked to the presence of several adaptation factors, one of which is the capacity to acquire iron. Previously, an *in vivo* screen of *B. cereus* led to the identification of a novel protein, IIsA (Iron-regulated leucine rich surface protein), which is specifically expressed *in vivo* in the insect hemocoel and under iron restrictive conditions *in vitro*^{*}. It was further shown that IIsA is localized on the surface of *B. cereus* and affinity tests revealed that IIsA interacts with both hemoglobin, (probably due to the presence of a NEAT domain) and host ferritin. Inactivation of *iIsA* decreases the ability of *B. cereus* to grow in the presence of especially ferritin indicating that IIsA plays a role in iron acquisition from this iron source. In addition, the *iIsA* mutant displays reduction in growth and virulence in an insect model *Galleria mellonella*^{**}. In order to further analyze how IIsA takes part in iron acquisition from hemoglobin and ferritin we are actually searching for possible partners playing a role in transport and iron release. The role of Isd components, (Iron surface determinants) previously identified in *B. anthracis* and *S. aureus* as being involved in iron uptake from heme, are considered. To understand how iron is released from host ferritin and transported into the bacterial cells, investigations on the interaction between IIsA and ferritins and on the roles of the *B. cereus* siderophores (bacillibactin and petrobactin) have been done using reverse genetic and biophysical techniques. Our data suggest that IIsA may contribute to unfold the ferritin shell, which will accelerate iron acquisition by bacillibactin. This finding reveals for the first time the mechanisms of host ferritin use by bacteria and highlights the interplay between surface proteins and siderophores. In conclusion, IIsA is a key factor of iron acquisition, specifically adapted for interaction with several iron-rich host proteins found in vertebrates and invertebrates. Thus, our results provide further insights into host adaptation of *B. cereus*.

Références bibliographiques :

*Fedhila, S., Daou, N., Lereclus, D. and Nielsen-LeRoux, C. (2006). Identification of *Bacillus cereus* internalin and other candidate virulence genes specifically induced during oral infection in insects. *Mol Mic*, 62 (2), 339-355.

**Daou, N., Buisson, C., Gohar, M., Vidic, J., Bierne, H., Kallassy, M., Lereclus, D. and Nielsen-LeRoux, C. (2009). IIsA, A Unique Surface Protein of *Bacillus cereus* required for Iron Acquisition from Heme, Hemoglobin and Ferritin. *PLoS Path*, 5 (11), e1000675.

Mots-clés : *Bacillus cereus*, iron acquisition, IIsA, siderophore, Isd, insect, virulence

P73 - Identification of *Enterococcus faecalis* genes involved in the adaptation to the gastro-intestinal tract

Lionel Rigottier-Gois^{1,2}, Clément Madec^{1,2}, Albertas Navickas^{1,2}, Elodie Akary-Lepage^{1,2},
Renata Matos^{1,2}, **Pascale Serror**^{1,2}

pascale.serror@jouy.inra.fr

¹INRA, UMR1319 Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

²AgroParisTech, UMR Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

If the commensal bacterium *Enterococcus faecalis* is harmless for healthy humans, it has emerged as a major cause of nosocomial infections. Following disruption of the intestinal homeostasis, *E. faecalis* can overgrow and cross the intestinal barrier leading to infection in compromised patients. Thus, *E. faecalis* opportunism relies in part on its capacity to colonize the gut.

Our objective was to identify and study *E. faecalis* genes implicated in the intestinal colonization. Based on *in silico* analysis and comparative genomic hybridization, thirty genes were selected for inactivation, and the resulting mutants were screened for their capacity to colonize the gastrointestinal tract in an orogastric clindamycin-treated mouse model. The disruption of three enterococcal intestinal colonization (*eic*) genes attenuated the colonization potential. The first gene encodes EF2662, a predicted choline-binding surface protein with potential role in the hydrolysis of the peptidoglycan. The predicted product of the second *eic* gene named *eicR* harbors a DNA-binding motif of the Mga proteins family (multigene regulator of the Group A *streptococcus*) transcriptional activators in Firmicutes. The third *eic* gene encodes EF2170, a secreted glycosyltransferase. It is located upstream of the rhamnopolysaccharide-encoding locus *epa* (enterococcal polysaccharide antigen) that has a role in biofilm formation, epithelial translocation and resistance to opsonophagocytosis. We have demonstrated that inactivation of *ef2170* modifies the composition of surface polysaccharides, which may explain increased sensitivity to bile salts and altered cell wall. The functional analysis of these colonization factors will be further investigated both at the bacterial and host level.

Mots-clés : *Enterococcus faecalis*, gut adaptation, colonization factor

P74 - HpaP, a chaperone-like protein with a key role in the virulence of *Ralstonia solanacearum*, interacts with and regulates secretion of the T3E PopP1

D. Lohou ¹, **Marie Turner**¹, C. Péanne ¹, A.C. Cazalé-Noël ¹, S. Genin ¹ and F. Vailleau ¹

Marie.turner@toulouse.inra.fr

¹ Laboratoire des Interactions Plantes Micro-organismes (LIPM), UMR CNRS-INRA 2594/441, 31326 Castanet Tolosan, France.

Ralstonia solanacearum is the causal agent of bacterial wilt on more than 200 plant species including important crops. Its key virulence determinant is the Type Three Secretion System (TTSS), with secretion of Type Three Effectors (T3Es). HpaP (hrp-associated) is a chaperone-like protein homologous to HpaC in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, which was shown to interact with T3Es and structural component of the TTSS. We identified HpaP as an important determinant of virulence and host specificity. The *hpaP* mutant of wild type (WT) GMI1000 has reduced pathogenicity on tomato and *Arabidopsis thaliana* and is unable to provoke disease on *Medicago truncatula*. In order to understand what controls the outcome of the interaction with *M. truncatula*, we looked for interactors of HpaP and studied its role in regulating secretion. Yeast two hybrid experiments revealed interactions between HpaP and both T3E and other chaperone. Pull-down assays confirmed its interaction with the T3E PopP1. Experiments on time course of secretion showed regulation of T3Es and structural component of TTSS by HpaP. While the majority of T3Es were secreted at the same level during the course of secretion in GMI1000, PopP1 presented a peak of secretion 8hpi. Its secretion was lower than in WT and this peak was no longer observed with *hpaP* mutant. Secretion of other T3Es and HrpY, a structural component of TTSS, also seemed regulated by HpaP. Comparing the whole secretomes of GMI1000 and *hpaP* mutant via mass spectrometry and studying the role of HpaP in the translocation of T3Es are underway.

Mots-clés : *Ralstonia solanacearum*, TTSS, chaperone, Type III effector secretion, host specificity

P75 - Le potentiel probiotique anti-inflammatoire de *Lactobacillus delbrueckii*

Hela El Kafsi¹, Johan Binesse¹, Clarissa Santos Rocha¹, Valentin Loux², Emmanuelle Maguin¹ & **Maarten van de Guchte¹**

maarten.vandeguchte@jouy.inra.fr

¹INRA, UMR1319 Micalis, Jouy en Josas, France.

²INRA, UR1077 MIG, Mathématique Informatique et Génome, Jouy en Josas, France.

Les maladies inflammatoires intestinales sont des pathologies en forte croissance dans la société occidentale, compromettant le bien-être de nombreux individus et ayant un impact économique important. Des études récentes révèlent des corrélations entre l'occurrence de ces maladies et des modifications de la composition du microbiote intestinal, et les résultats obtenus avec des souris à flores contrôlées montrent que la composition du microbiote peut être un facteur déterminant dans le développement de la maladie.

Le microbiote intestinal est composé de bactéries dites "commensales", et de bactéries en transit, apportées par l'alimentation. De grandes quantités de bactéries sont notamment ingérées avec des produits fermentés comme le yaourt et le fromage. Nous avons pu démontrer le potentiel probiotique immunomodulateur de *Lactobacillus delbrueckii*, dont la sous-espèce (ssp) *bulgaricus* est présente dans le yaourt et la ssp *lactis* utilisée pour la fabrication de fromages, *in vitro* dans un modèle de cellules épithéliales intestinales contenant un système rapporteur de l'activité NF-κB. NF-κB est un facteur de transcription importante dans la réponse inflammatoire. Ces effets sont vraisemblablement dus à des protéines exposées à la surface des bactéries. La souche CNRZ327, caractérisée comme fortement anti-inflammatoire *in vitro*, a aussi montré un rôle protecteur *in vivo* chez la souris, dans un modèle de colite induite par le dextran sulfate de sodium (DSS) (Santos Rocha *et al*, 2012. *Inflamm Bowel Dis* 18:657–666).

Les recherches actuelles se focalisent sur l'identification des facteurs bactériens impliqués dans le dialogue avec l'hôte, à l'origine de l'effet anti-inflammatoire de *L. delbrueckii*. Dans cet objectif, 8 souches de *L. delbrueckii* ont été sélectionnées sur la base de leur activité anti-inflammatoire *in vitro*: forte, intermédiaire ou faible. Une approche de génomique comparée a ensuite été entreprise avec le séquençage des génomes de 6 de ces souches, en plus des séquences génomiques des 2 autres souches déjà rendues publiques. Cette approche est suivie dans le contexte d'un projet plus large (ANR "Surfing", Starter SURFace against INFlammation of the Gut), où elle est associée à des approches de transcriptomique et protéomique comparés.

Références bibliographiques :

Santos Rocha *et al*, 2012. *Inflamm Bowel Dis* 18:657–666

Mots-clés : *Lactobacillus delbrueckii*, probiotique, anti-inflammatoire

P76 - Functional studies of the predicted surface proteome of Gram-positive bacteria from the human gastrointestinal tract

Dragana Dobrijevic, Gaetana Di Liberto, Hervé Blottière, Emmanuelle Maguin &
Maarten van de Guchte

maarten.vandeguchte@jouy.inra.fr

INRA, UMR1319 Micalis, Jouy en Josas, France.

It is now well known that the microbiota of the gastrointestinal tract (GIT) has an intricate role in human health and disease. Understanding how members of the microbiota regulate host inflammatory pathways and the bacterial genes involved should provide new directions in treating and preventing disease. The fast growing knowledge about the microbiota of the GIT and their collective genomes provides a platform for the *in silico* identification of high numbers of bacterial candidate genes but the challenge is to move from predictions and correlations to experimental validation and functional relationships.

We focused on the surface proteome of 24 Firmicute species that make part of the intestinal “core” species, and selected candidates among potentially surface exposed and secreted proteins as these are the simplest surface exposed entities that might promote immune modulation. For the functional analysis, a host-vector system was developed for high-throughput cloning of the corresponding genes and inducible expression in *B. subtilis*. A cell-based *in vitro* screen for immune modulation was used to evaluate immune modulation properties of the expressed proteins. The presented method complements existing approaches designed to explore the functional diversity of the Gram-positive fraction of the microbiota and its immune-modulating capacities.

Mots-clés : functional metagenomics, GI tract, host-vector system

P77 - Use of genome-wide analysis for deciphering the role of master regulators during the early stages of *Arabidopsis* infection by the enterobacterium *Dickeya dadantii*

E. Chapelle, B. Alunni, J. Pédrón, P. Malfatti, L. Solier et **Frédérique Van Gijsegem**

vangijse@agroparistech.fr

INRA/AgroParisTech/UPMC UMR217, 16 rue Claude Bernard, 75005 PARIS, France

The broad host range phytopathogenic bacterium *Dickeya dadantii* is the causal agent of soft rot disease in many crops and ornamentals. Soft rot symptoms are mainly caused by the production and secretion of plant cell wall-degrading enzymes (CWDE). Several other factors are however essential in the early stages of plant-bacterium interactions leading to an efficient plant colonization and ultimately to disease expression. The production of these diverse pathogenicity factors is finely tuned by complex and intertwined bacterial regulatory networks and the role of several global regulators involved in this control, such as PecS, GacA and MfbR, has been characterized. GacA and MfbR are required for the expression of virulence factors encoding genes both *in vitro* and *in planta* while PecS prevents the early expression of these genes during the asymptomatic colonization phase of infection (Lebeau et al, 2008; Reverchon et al, 1994; 2010; Mhedbi-Hajri et al, 2011). To have a genome-wide view of the effects of these regulators on bacterial gene expression *in planta*, we devised a new method allowing the isolation of bacterial RNA from infected plant leaves during the early phases of infection. This permitted us to compare by microarrays the *D. dadantii* transcriptomic profiles in bacteria present on leaves surfaces and *in planta*. Comparisons of the profiles of a *pecS* mutant with those of the wild type parent revealed that, in bacteria present on surface leaves at the beginning of infection (6 hours post infection), about 400 genes are differentially modulated. In addition to genes involved in protein secretion or encoding secreted proteins (pectinases, proteases, type III effectors), the most represented categories included genes involved in metabolism, transport, motility/chemotaxis and encoding regulatory proteins. More than one half of these genes are also modulated in the wild type parent at the onset of maceration (24 hpi) as compared to their expression on leaves surfaces. By contrast, at the onset of maceration, only a few dozens genes show a differential expression in the *pecS* mutant as compared to the wild type parent. Among them are the genes clustered around the *pecS* gene and these genes are highly expressed throughout the infection both during the asymptomatic colonization phase and at the onset of maceration. Collectively, these data confirmed the role of PecS as a key regulator during the colonization phase of infection and allowed the identification of new genes putatively important in *D. dadantii* virulence.

Références bibliographiques :

Lebeau Aurore, Reverchon Sylvie, Gaubert Stéphane, Kraepiel Yvan, Simond-Côte Elizabeth, Nasser William, Van Gijsegem Frédérique (2008) The GacA global regulator is required for the appropriate expression of *Erwinia chrysanthemi* 3937 pathogenicity genes during plant infection. *Environ Microbiol*, 10: 545-559

Reverchon Sylvie, Van Gijsegem Frédérique, Effantin Géraldine, Zghidi-Abouzid Ouafa and Nasser William (2010) Systematic targeted mutagenesis of the MarR/SlyA family members of *Dickeya dadantii* 3937 reveals a role for MfbR in the modulation of virulence gene expression in response to acidic pH. *Mol Microbiol*, 78(4): 1018–1037

Mhedbi-Hajri N., Malfatti P., Pédrón J., Gaubert S., Reverchon S., Van Gijsegem F. (2011) PecS is an important player in the regulatory network governing the coordinated expression of virulence genes during the interaction between *Dickeya dadantii* 3937 and plants. *Environ Microbiol*, 13: 2901-2914

Mots-clés : transcriptome in planta, gènes de virulence, régulation

P78 - Impact de l'IL-17RA sur le recrutement des neutrophiles suite à l'infection pulmonaire par mycobactéries

Robin Lombard, Emilie Doz, Florence Carreras, Fanny Bauchet, Dominique Buzoni-Gatel &
Nathalie Winter

Nathalie.Winter@tours.inra.fr

INRA, Université de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly, France

La caractéristique des infections pulmonaires par *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) est le granulome où plusieurs types de cellules coopèrent pour limiter la multiplication des bacilles. Les granulomes sont également des sites inflammatoires qui doivent être contrôlés pour éviter d'endommager les tissus. Parmi les cellules présentes dans les granulomes, les neutrophiles peuvent jouer des rôles bénéfiques ou nuisibles [1]. Récemment, un nouveau concept de neutrophiles suppressifs producteurs d'IL-10 a émergé, ce qui peut contribuer à la pathogenèse des mycobactéries [2]. La cytokine inflammatoire IL-17A joue un rôle clé dans le recrutement des neutrophiles dans les infections bactériennes et fongiques. En outre, dans le modèle de la souris, l'IL-17A est impliqué dans la formation de granulomes matures après des infections par Mtb et *M. bovis*, Bacille de Calmette-Guérin (BCG) [3,4].

IL-17RA est le récepteur commun pour quatre membres de la famille des cytokines IL-17, y compris la mieux caractériser l'IL-17A. Nous avons décidé de décrypter son rôle dans le recrutement des neutrophiles dans les poumons et le contrôle du granulome en réponse à mycobactéries. En cytométrie en flux, nous avons observé des neutrophiles (CD11b+, Ly-6C+, Ly-6G+) recrutés dans les poumons après instillation de BCG par voie intranasale. Le recrutement des neutrophiles est survenue en deux pics, un premier innée, jours 1 à 3 et un second adaptatif, en corrélation avec le recrutement de cellules T CD4 $\alpha\beta$ au niveau du poumon autour du jour 23. Les deux, IFN- γ et IL-17A ont été observés à ce point. Fait intéressant, les souris IL-17RA^{-/-} ont un recrutement de neutrophiles à peine détectable dans la phase adaptative, tandis que les neutrophiles innées sont présents. In vitro les cellules pulmonaires totales stimulées par le BCG produisaient de l'IL-10. Toutefois, la production d'IL-10 est diminuée dans les souris IL-17RA^{-/-} pendant la phase d'adaptative. Ceci en corrélation avec une augmentation de la production de l'IL-17A. Nous allons caractériser les chimiokines impliquées dans le recrutement des neutrophiles au cours des deux phases de la réponse immunitaire. Nous allons également de comparer la formation de granulomes dans les souris IL-17RA^{-/-} par rapport à des souris de type sauvage.

En conclusion, lors de l'infection par le BCG, les neutrophiles sont recrutés dans le poumon à deux temps distincts de la réponse immunitaire. L'IL-17RA est un régulateur majeur du recrutement des neutrophiles dans la phase d'adaptative, ce qui suggère que différents signaux ou des neutrophiles différents sont présents pendant les deux phases. Nous nous demandons si l'IL-10 produit par les neutrophiles suppressifs recrutés lors de la maturation du granulome pourrait freiner la réponse de l'hôte et le contrôle des bactéries.

Références bibliographiques :

1. Martino A, Badell E, Winter N (2011) Neutrophils in mycobacterial infections. In: Tacchini-Cottier F, van Zandbergen G, editors. Neutrophils In Infectious Diseases: Bentham Science publishers Ltd. pp. 42-48.
2. Zhang X, Majlessi L, Deriaud E, Leclerc C, Lo-Man R (2009) Coactivation of Syk kinase and MyD88 adaptor protein pathways by bacteria promotes regulatory properties of neutrophils. 31: 761-771.
3. Okamoto Yoshida Y, Umemura M, Yahagi A, O'Brien RL, Ikuta K, et al. (2010) Essential role of IL-17A in the formation of a mycobacterial infection-induced granuloma in the lung. J Immunol 184: 4414-4422.
4. Umemura M, Yahagi A, Hamada S, Begum MD, Watanabe H, et al. (2007) IL-17-mediated regulation of innate and acquired immune response against pulmonary *Mycobacterium bovis* Bacille Calmette-Guérin infection. J Immunol 178: 3786-3796.

Mots-clés : Mycobactéries, Neutrophiles, IL-17A, IL-10

Session 4 – Blanche

Sommaire Session 4 - Blanche

Conférencier invité – Session 4..... 143

- Progrès et contraintes pour le développement de la métagénomique phytovirale143
Thierry Candresse^{1,2}, A. Marais^{1,2}, C. Faure^{1,2}, L. Svanella-Dumas^{1,2}, S. Carrère^{3,4}, B. Bergey^{1,2},
 and Yec'Han Laizet^{1,2} 143

Communications orales – Session 4 144

- O19 - Analyse phosphoprotéomique des voies de réponse au fludioxonil des champignons filamenteux
Alternaria brassicicola et *Botrytis cinerea*.....145
Jérôme Dumur², Marlène Davanture¹, Benoît Valot¹, Claire Champion², Nelly Bataille², Michel Zivy¹,
 Philippe Simoneau², & Sabine Fillinger³ 145
- O20 - Prophage-crosstalk and prophage-associated cytotoxicity in *Enterococcus faecalis* v583.....146
Renata Cruz de Matos¹²³, Naima Cortes-Perez¹², Nicolas Lapaque¹², Albertas Navickas¹², Thierry
 Meylheuc¹², Francis Repoila¹², Lionel Rigottier-Gois¹², Bruno Gonzalez-Zorn⁴, Maria de Fatima
 Lopes³, Pascale Serror¹² 146
- O21 - Genomics and physiology to investigate the lipid metabolism of 9 oleaginous yeasts.....147
Stéphanie Michely¹, Claude Gaillardin², Jean-Marc Nicaud³, Cécile Neuvéglise¹ 147
- O22 - La recombinaison homologue atypique des bactériophages148
Geoffrey Hutinet, Jihane Amarir-Bouhram, Elisabeth Moncaut, Marie-Agnès Petit 148
- O23 - Dynamique de mise en œuvre des hémicellulases de *Thermobacillus xylanilyticus* pour le
 fractionnement des parois végétales149
Pierre-Vincent Revol, Harivony Rakotoarivonina, Caroline Rémond 149
- O24 - The Group B antigen of *Streptococcus agalactiae*: a peptidoglycan-anchored polysaccharide
 involved in cell wall biogenesis150
 Élise Caliot^a, Shaynoor Dramsi^a, Marie-Pierre Chapot-Chartier^{c,d}, Pascal Courtin^{c,d}, Saulius
 Kulakauskas^{c,d}, Christine Péchoux^e, Patrick Trieu-Cuot^{ab}, **Michel-Yves Mistou**^{c,d} 150

Posters – Session 4 151

- P79 - Effet de l'oxygène sur la sporulation de *Bacillus cereus*152
Amina Abbas¹, Michel Jobin¹, Philippe Schmitt¹ 152
- P80 - La flore microbienne fromagère est-elle capable de survivre aux stress digestifs ?.....153
Nadège Adouard¹, Pascal Bonnarne¹, Marielle Bouix¹, Daniel Picque¹, Benoît Foligne² 153
- P81 - Effect of *ramR* mutations on efflux genes expression and on fluoroquinolone susceptibility in
Salmonella enterica serotype Kentucky ST198.....154
Sylvie Baucheron-Monnier^{1,2}, S. Le Hello³, B. Doublet^{1,2}, E. Giraud^{1,2}, F.X. Weill³, A. Cloeckert^{1,2}
 154
- P82 - L5P a specific lipopeptide of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: feature and innovative
 diagnosis applications155
Franck Biet¹, Christelle Ganneau², Thierry Cochard¹, Faridabano Nato³ and Sylvie Bay² 155

P83 - Inter- and Intra-subtype genotypic differences that differentiate <i>Mycobacterium avium</i> subspecies <i>paratuberculosis</i> strains	156
Franck Biet ¹ , Iker A. Sevilla ² , Thierry Cochard ¹ , Louise H. Lefrançois ¹ , Joseba M. Garrido ² , Ian Heron ³ , Ramón A. Juste ² , Joyce McLuckie ³ , Virginie C. Thibault ¹ , Philip Supply ⁴ , Desmond M. Collins ⁵ , Marcel A. Behr ⁶ , Karen Stevenson ³	
P84 - Rôle de KuA dans la réponse aux agents génotoxiques chez <i>Streptomyces ambofaciens</i>	157
Ludovic Chipot ¹ , Lingli Zhang ¹ , Emilie Piotrowski ¹ , Claire Bertrand ¹ , Fabrice Confalonieri ² , Annabelle Thibessard ¹ and Pierre Leblond ¹	
P85 - Lipopolysaccharide heterogeneity in the atypical group of novel emerging <i>Brucella</i> species	158
Michel S. Zygmunt ^{a,b,*} Isabelle Jacques ^{a,b,c} Nelly Bernardet ^{a,b} & Axel Cloeckaert ^{a,b}	
P86 – Horizontal gene transfer mediated by bacteriophages in the mouse gut	159
Marianne De Paepe , Marie-Agnès Petit	
P87 - Réponse physiologique de <i>Bacillus cereus</i> , au froid en absence d'oxygène.....	160
Benoît de Sarrau ^{1,2} , Thierry Clavel ^{1,2} , Christophe Nguyen-thé ^{1,2}	
P88 - Caractérisation du gène cyp684 responsable de la résistance au fenhexamid chez l'espèce <i>Botrytis pseudocinerea</i>	161
Saad Azeddine & Alexis Billard, Pauline Solignac, Jocelyne Bach, Catherine Lanen, Anne-Sophie Walker, Sabine Fillinger & Danièle Debieu	
P89 - Adaptation de <i>Bacillus cereus</i> au froid : mécanismes moléculaires impliqués et exploitation de la diversité génétique du groupe <i>Bacillus cereus</i>	162
Sara Esther Diomande ^{1,2} , Véronique Broussole ^{1,2} , Julien Brillard ^{1,2} .	
P90 - <i>Salmonella</i> genomic island 1 : a successful antimicrobial resistance genes vehicle	163
Benoît Doublet , Gregory Douard, and Axel Cloeckaert	
P91 - Évolution des populations aériennes de <i>Botrytis cinerea</i> : un exemple d'aéromicrobiologie	164
Christel Leyronas ¹ , Fabien Halkett ² , Magali Duffaud ¹ , Philippe Nicot ¹	
P92 - Des indicateurs moléculaires permettent-ils d'étudier la dispersion des bioaérosols? Exemple des plateformes de compostage industriel.	165
Amandine Galès ¹ , Valérie Bru-Adan ¹ , Hélène Bacheley ² , Jean-Jacques Godon ¹ et Nathalie Wéry ¹	
P93 - La vie extracellulaire du peptide ComS déclenchant la compétence chez <i>Streptococcus thermophilus</i>	166
Rozenn Gardan ^{1,2} , Colette Besset ^{1,2} , Christophe Gitton ^{1,2} , Alain Guillot ^{1,2} & Véronique Monnet ^{1,2}	
P94 - Rgg-associated signaling peptides mediate cross-talk in streptococci	167
Betty Fleuchot ^{1, 2} , Pierre Nicolas ³ , Alain Guillot ^{1, 2} , Véronique Monnet ^{1, 2} , Rozenn Gardan ^{1, 2}	
P95 - FILTRES: un logiciel convivial pour la microbiologie prévisionnelle.....	168
Jean-Pierre Gauchi ¹ , J.P. Vila ² , C. Bidot ¹ , E. Atlijani ¹ , A. Bouvier ¹ , L. Coroller ³ , J.-C. Augustin ⁴ & P. Del Moral ⁵	
P96 - Inactivation atmosphérique des virus présents dans les eaux usées utilisées en irrigation : suivi en enceinte climatique dédiée	169
Guillaume Girardin ^{1,2} , F. Bon ³ , D. Courault ^{1,2} , P. Renault ^{1,2} , H. Wortham ⁴ , L. Capowicz ^{1,2} , F. Tison ^{1,2}	

P97 - Le profilage métabolique : potentialités d'une nouvelle approche analytique globale pour la détection de la présence de <i>Campylobacter</i> dans la viande de porc	170
Sandrine Guillou ^{1,3} , Sami Ellouze ^{2,3} , Frédérique Courant ^{2,3} , Albert Rossero ^{1,3} , Gaud Dervilly-Pinel ^{2,3} , Bruno Le Bizec ^{2,3} , Catherine Magras ^{1,3}	
P98 - Étude <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> de la virulence de souches de <i>Mycobacterium bovis</i> à l'origine de foyers de tuberculose bovine.....	171
Amandine Hauer ¹ , Thierry Cochard ² , Krystel DeCruz ³ , Nathalie Winter ² , Maria Laura Boschioli ³ & Franck Biet ²	
P99 - Étude de la résistance au stress acide de <i>Bacillus cereus</i> en conditions d'oxydo-réduction contrôlées.....	172
Julien Le Lay ¹ , Michel Jobin ¹ , Philippe Schmitt ¹	
P100 - Prévalence et diversité des éléments intégratifs conjugatifs (ICE) chez les streptocoques	173
Gérard Guedon ^{1,2} , Marie-Dominique Devignes ³ , Florence Charron-Bourgoin ^{1,2} , Virginie Libante ^{1,2} , Nicolas Pons ⁴ , Christine Delorme ⁴ , Nathalie Leblond ^{1,2} et Sophie Payot ^{1,2}	
P101 - Diversity and adaptation of flor yeast : new data for an old question	174
Jean-Luc Legras ^{1,2,3} , Frederic Bigey ^{1,2,3} , Anna Lisa Coi ⁴ , Virginie Galeote ¹ , Claudine Charpentier ⁵ , Sylvie Dequin ^{1,2,3}	
P102 - CIRM-Filamentous Fungi collection is a unique reservoir of functional diversity toward biotechnological applications	175
Laurence Lesage-Meessen ^{1,2,3} , Jean-Guy Berrin ^{1,2} , Marie Couturier ^{1,2} , Isabelle Gimbert ^{2,1} , Sacha Grisel ^{1,2} , Mireille Haon ^{1,2,3} , Anthony Levasseur ^{1,2} , Anne Lomascolo ^{2,1} , David Navarro ^{1,2,3} , François Piumi ^{1,2} , Jean-Claude Sigoillot ^{2,1} , Sabine Taussac ^{1,2,3} , Eva Uzan ^{2,1} , Anne Favel ^{2,1}	
P103 - Quantification of viable <i>Photobacterium phosphoreum</i> in salmon (<i>Salmo salar</i>) steaks by real-time PCR	176
Sabrina Macé ^{1,2,3,*} , Kelthoum Mamlouk ^{1,3} , Stoyka Chipchakova ^{1,3} , Jean-Jacques Joffraud ² , Paw Dalgaard ⁴ , Marie-France Pilet ^{1,3} and Xavier Dousset ^{1,3}	
P104 - Rôle des transferts horizontaux dans l'adaptation des levures œnologiques à leur environnement.....	177
Souhir Marsit ¹ , Virginie Galeote ¹ et Sylvie Dequin ¹	
P105 - Knr4/Smi1 family: Conserved fungal chaperones of puzzling origin.	178
Hélène Martin-Yken ¹ , Mathias L. Richard ² & Jean-Marie François ¹	
P106 - Stochastic gene expression, phenotypic variability and adaptation of budding yeast to environmental stresses	179
Hélène Martin-Yken ¹ , Marlène Vuillemin ¹ , Frédéric Bigey ² , Sylvie Dequin ² , Jean-Marie François ¹ & Jean-Pascal Capp ¹	
P107 - Une nouvelle stratégie d'étude de la communication bactérienne : l'identification du peptidome exocellulaire de <i>Lactococcus lactis</i>	180
Alain Guillot ¹ , Christophe Gitton ² , Mylène Boulay ² , Véronique Monnet ^{1,2} & Vincent Juillard ²	
P108 - Caractérisation des TAG lipases associées aux corps lipidiques chez la levure <i>Yarrowia lipolytica</i>	181
T. Dulermo ^{1,2,*} , B. Tréton ¹ , A. Beopoulos ^{1,2} , A.P. Kabran Gnankon ^{1,*} , R. Haddouche ^{1,***} & Jean-Marc Nicaud ²	
P109 - Stratégies pour la caractérisation du mécanisme de résistance aux fongicides de type MDR (MutiDrug Resistance) chez des isolats de <i>Mycosphaerella graminicola</i> fortement résistants aux IDM	182
Selim Omrane ¹ , Anne-Sophie Walker ¹ , Catherine Lanen ¹ , Lamia Aouini ² , Gert H.J. Kema ² &	

Sabine Fillinger¹ 182

P110 - A peptide-based cell cell communication mechanism in <i>Streptococcus agalactiae</i>	183
David Pérez-Pascual ^{1,2} , Philippe Gaudu ^{1,2} , Véronique Monnet ^{1,2} & Rozenn Gardan ^{1,2}	183
P111 - Authentification taxonomique des <i>Xanthomonas</i> du CIRM-CFBP	184
Martial Briand, Nadia Mhedbi-Hajri, Céline Fricot, Sophie Bonneau, Géraldine Taghouti, Perrine Portier , Marion Fischer-Le Saux	184
P112 - Amélioration de la méthode MicroResp TM de caractérisation rapide de la production microbienne de CO ₂ avec/sans apport de substrats.	185
Pierre Renault ¹ , Meriem Ben Sassi ^{1,2} , Annette Bérard ¹	185
P113 - Impact des déséquilibres nutritionnels sur les fermentations alcooliques : un excès d'azote augmente la mort cellulaire des levures en conditions de limitation en lipides.....	186
Catherine Tesniere ^{1,2,3} , Pierre Delobel ^{1,2,3} , Martine Pradal ^{1,2,3} , Bruno Blondin ^{1,2,3} ,	186
P114 - <i>Campylobacter</i> sous hautes pressions.....	187
Clémence Bièche ^{a,b,d} , Marie de Lamballerie ^{a,b} , Didier Chevret ^c & Odile Tresse ^{b,d}	187
P115 - Proteomic approach for bacteria of food interest identification: on-plate trypsinolysis followed by MALDI-MS/MS	188
M. Bourgeois, V. Chuat, S. Lortal, Florence Valence-Bertel , J. Jardin	188
P116 - Identification d'états physiologiques améliorant la résistance à la lyophilisation de <i>Lactococcus lactis</i> par la modulation de paramètres de fermentation	189
Hélène Velly ¹ , M. Bouix ¹ , F. Fonseca ¹	189
P117 - SdiA régule positivement l'opéron pefl-srgC de <i>Salmonella</i> Typhimurium en se liant à une des deux régions promotrices situées en amont de pefl.....	190
Olivier Grépinet ^{1,2,*} , Nadia Abed ^{1,2,*} , Sylvie Canepa ³ , Philippe Velge ^{1,2} , Isabelle Virlogeux-Payant ^{1,2}	190

Conférencier invité – Session 4

Progrès et contraintes pour le développement de la métagénomique phytovirale

Thierry Candresse^{1,2}, A. Marais^{1,2}, C. Faure^{1,2}, L. Svanella-Dumas^{1,2}, S. Carrère^{3,4},
B. Bergey^{1,2}, and Yec'Han Laizet^{1,2}

Thierry.Candresse@bordeaux.inra.fr

¹INRA, UMR 1332 BFP, BP81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France.

²Université de Bordeaux, UMR 1332 BFP, BP81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France.

³INRA, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR441, F-31326 Castanet-Tolosan, France.

⁴CNRS, Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM), UMR2594, F-31326 Castanet-Tolosan, France.

Le développement des techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS, next generation sequencing) ouvre actuellement un accès sans précédent aux métagénomiques viraux et, en particulier, aux communautés de phytovirus infectant les populations végétales. Plusieurs stratégies ont été envisagées pour étudier les métagénomiques phytovirales et nous développons actuellement ce type d'approches dans deux sites très différents. L'un est l'écosystème contraint et paucispécifique des Iles Kerguelen (le second archipel le plus isolé au monde) et l'autre un écosystème agricole fortement anthropisé dans un contexte de polyculture légumière. Bien que le pyroséquençage des échantillons et l'analyse bioinformatique des données soient encore en cours, un certain nombre d'informations ont été acquises, démontrant la faisabilité générale de la démarche et permettant de contraster le métagénome phytoviral de ces deux environnements. En particulier, le métagénome phytoviral des Iles Kerguelen apparaît comme particulièrement biaisé vers les virus à ARN bicaténaires tempérés alors qu'une diversité nettement plus importante en virus à ARN monocaténaires phytopathogènes est observée dans l'agroécosystème. Ces données permettent également de comparer différentes stratégies d'analyse et de mesure de la diversité virale et d'identifier certaines contraintes ou limitations des différentes approches utilisées. Ainsi une analyse préliminaire aux Kerguelen de la diversité des *Amalgamaviridae*, une famille de virus à ARN bicaténaires récemment découverte a permis de mettre en évidence une importante diversité. Comparé aux 4 espèces actuellement connues pour la famille, les données Kerguelen ont permis l'identification d'un minimum de 26 OTU (Operational Taxonomy Units, définies sur la base d'une divergence minimale de 10% dans la séquence en acide aminés d'une courte séquence conservée encadrant le site actif de la RNA polymérase virale). L'utilisation d'une approche d'écogénomique a permis de montrer que ces agents sont majoritairement, mais non exclusivement associés aux monocotylédones. La situation de l'espèce indigène *Poa cookii* (Pâturin de Cook), qui héberge une importante diversité d'*Amalgamaviridae* dont certains sont partagés avec l'espèce introduite *Poa annua* (Pâturin annuel) semble particulièrement originale.

Communications orales – Session 4

(par ordre chronologique des présentations)

O19 - Analyse phosphoprotéomique des voies de réponse au fludioxonil des champignons filamenteux *Alternaria brassicicola* et *Botrytis cinerea*

Jérôme Dumur², Marlène Davanture¹, Benoît Valot¹, Claire Champion², Nelly Bataille², Michel Zivy¹,
Philippe Simoneau², & Sabine Fillinger³

jerome.dumur@univ-angers.fr

¹ PAPPSO, INRA-CNRS-Université Paris XI-Agro ParisTech, Gif-sur-Yvette, France

² UMR 1345 IRHS, INRA-Université d'Angers-Agrocampus Ouest, Angers, France

³ BIOGER CPP, INRA, Grignon, France

En réponse aux stress environnementaux, la phosphorylation et déphosphorylation des protéines est une modification post-traductionnelle permettant la perception et la transduction rapide de signaux intracellulaires et conduisant à une réponse adaptative de la cellule aux stress perçus. Chez les champignons, la réponse aux stress s'organise principalement autour de voies de signalisation impliquant des MAP kinases. Certains fongicides utilisés en agriculture ont pour cibles des composantes de ces voies de transduction de signaux. En particulier les fongicides de type dicarboximide et phénylpyrrole ciblent l'histidine kinase du groupe III Nik1/Bos1. Les mutations au locus codant cette protéine conduisent à une résistance totale à ces fongicides.

Dans le but d'identifier et de comparer les protéines impliquées dans la perception et la transduction de signal en réponse à un traitement phénylpyrrole chez *Alternaria brassicicola* et *Botrytis cinerea*, une analyse différentielle des phosphoprotéomes a été réalisée en comparant des échantillons traités ou non au fludioxonil (phénylpyrrole) chez ces deux champignons filamenteux phytopathogènes. Cette approche permet une étude globale des protéines phosphorylées par l'analyse en spectrométrie de masse LC-MS/MS des phosphopeptides provenant de la digestion trypsique d'extraits de protéines totales. Parmi les protéines différentiellement phosphorylées, une forte proportion de protéines aux fonctions régulatrices (facteurs de transcription, transcription, traduction) est identifiée ainsi que des protéines impliquées dans le métabolisme du glycogène et des lipides, dans les transports vésiculaires et le cytosquelette. Des mutants obtenus dans ces gènes ont été testés afin de vérifier ou non leur implication dans la sensibilité au fludioxonil et valider les résultats obtenus.

Mots-clés : ascomycètes, phosphoprotéome, fludioxonil, transduction de signaux

O20 - Prophage-crosstalk and prophage-associated cytotoxicity in *Enterococcus faecalis* V583

Renata Cruz de Matos¹²³, Naima Cortes-Perez¹², Nicolas Lapaque¹², Albertas Navickas¹², Thierry Meylheuc¹², Francis Repoila¹², Lionel Rigottier-Gois¹², Bruno Gonzalez-Zorn⁴, Maria de Fatima Lopes³, Pascale Serror¹²

Renata.Cruzdematos@jouy.inra.fr

Comm orale
Doctorant

¹INRA, UMR1319 Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

²AgroParisTech, UMR Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

³Instituto de Tecnologia Quimica e Biologica (ITQB), Portugal

⁴Universidad Complutense de Madrid, Spain

Polylysogeny is frequently considered as the result of an adaptive evolution process in which prophages confer bacterial fitness; making them important for evolution of both bacterial populations and infectious diseases. The *Enterococcus faecalis* V583 isolate belongs to a high-risk clonal complex that is particularly well adapted to hospital environment. The V583 genome carries 7 prophage-like elements. Whereas one of the V583 prophages belongs to the core genome, two others are enriched in CC2-isolates, supporting the idea that these mobile genetic elements may increase fitness in the hospital environment.

In this study, we addressed the activity of the V583 prophages and their role in bacterial fitness. To this end, we examined the gene content of each prophage to predict its functionality. To test our predictions, we systematically analysed the ability of each prophage to excise from the bacterial chromosome, to replicate and to package its DNA. We also created an array of *E. faecalis* strains that lack from single to all six non-ubiquitous prophages by mimicking natural excision. Our work revealed, for the first time, that the 6 non-ubiquitous prophages of *E. faecalis* V583 can excise from the host chromosome and that four of them produce active phage progeny. Intricate interactions between V583 prophages have been revealed. Two prophages inhibit excision of a third one and, another prophage hijacks capsids from a helper prophage. Furthermore, we revealed a prophage-dependent cytotoxic effect of strain V583 on Raw macrophages. The role of *E. faecalis* V583 prophages on bacterial fitness is being further investigated.

Mots-clés : prophages, *Enterococcus faecalis*, fitness, cytotoxicity

O21 - Genomics and physiology to investigate the lipid metabolism of 9 oleaginous yeasts

Stéphanie Michely¹, Claude Gaillardin², Jean-Marc Nicaud³, Cécile Neuvéglise¹

smichely@grignon.inra.fr

Comm orale
Doctorant

¹ INRA, UMR 1319 Micalis, F-78352 Jouy-en-Josas, France

² AgroParisTech, Micalis, F-78352 Jouy-en-Josas, France

³ CNRS, Micalis, F-78352 Jouy-en-Josas, France

Yarrowia lipolytica belongs to a group of yeasts that has diverged very early from most other hemiascomycetous yeasts [1]. This yeast is able to use various hydrophobic substrates as unique carbon source and to synthesize new free fatty acid from non hydrophobic compounds [2]. These characteristics make *Y. lipolytica* a known oleaginous model for the lipid metabolism survey of yeasts [3].

Its genome has been entirely sequenced within the framework of the Génolevures consortium. This sequencing highlighted several peculiarities of its genome organisation, clearly setting it apart from most other hemiascomycetous yeasts so far analysed: unusually large genome size [4], atypical organisation of tRNA genes [5], relatively high frequency of spliceosomal introns [6] and diversified content of transposable elements .

Several yeast species recently described were proposed to be close relatives of *Y. lipolytica* [7] . All of them are from different geographical and biological origins. Here we study, for 9 of them, physiological characteristics such as their growth capacities on different media (lipids, alkanes and sugars), their fatty acid synthesis and storage capacities as well as their own lipid composition. As an example we discovered that these 9 yeasts were able to grow on fatty acids whereas some of them had lost the capacity to grow on alkanes. These findings highlight differences at the lipid metabolism level.

The recent sequencing of 5 genomes within the *Yarrowia* clade enables to search homologues of *Y. lipolytica* genes known to be implicated in the lipid metabolism and allows to study their genetic environment, to compare these data with the physiological characteristics and finally to deduce the relative rule of the known mechanisms of evolution (gene duplications, mutations, chromosomal rearrangements). The contractions and expansions of key protein families (lipases, cytochrome P450) and their synteny are particularly investigated.

The combination of these developed approaches will improve the comprehension of both evolution and adaptation of the lipid metabolism of these different yeasts within the *Yarrowia* clade.

Références bibliographiques :

1. TheGénolevuresConsortium, et al., *Comparative genomics of protoploid Saccharomycetaceae*. Genome Research, 2009. **19**(10): p. 1696-1709.
2. Barth, G. and C. Gaillardin, *Yarrowia lipolytica*, in *Non-Conventional Yeasts in Biotechnology*, W.K. Wolf, Editor. 1996, Springer-Verlag: Berlin. p. 313-388.
3. Beopoulos, A., T. Chardot, and J.-M. Nicaud, *Yarrowia lipolytica: A model and a tool to understand the mechanisms implicated in lipid accumulation*. Biochimie, 2009. **91**(6): p. 692-696.
4. Dujon, B., et al., *Genome evolution in yeasts*. Nature, 2004. **430**(6995): p. 35-44.
5. Acker, J., et al., *Dicistronic tRNA-5S rRNA genes in Yarrowia lipolytica: an alternative TFIIIA-independent way for expression of 5S rRNA genes*. Nucleic Acids Research, 2008. **36**(18): p. 5832-5844.
6. Mekouar, M., et al., *Detection and analysis of alternative splicing in Yarrowia lipolytica reveal structural constraints facilitating nonsense-mediated decay of intron-retaining transcripts*. Genome Biology, 2010. **11**(6): p. R65.
7. Kurtzman, C.P., J.W. Fell, and T. Boekhout, *Yarrowia van der Walt & von Arx (1980)*. The Yeasts: A Taxonomic Study, ed. Elsevier. Vol. 2. 2011.

Mots-clés : *Yarrowia* clade; lipid metabolism; mechanisms of evolution; gene families

O22 - La recombinaison homologue atypique des bactériophages

Geoffrey Hutinet, Jihane Amarir-Bouhram, Elisabeth Moncaut, Marie-Agnès Petit

geoffrey.hutinet@jouy.inra.fr

Comm orale
Doctorant

INRA, UMR1319 Micalis, Équipe Phages, Bt 222, 78350 Jouy en Josas, France

Les transferts horizontaux jouent certainement un rôle dans l'équilibre des écosystèmes microbiens, même s'il est aujourd'hui difficile à mesurer. Trois grands types de transferts sont connus, la conjugaison, la transformation naturelle et la transduction par les bactériophages. On parle de transduction spécialisée, ou conversion lysogénique, pour la transduction de gènes opérée par les phages tempérés. Nos travaux sont centrés sur ce dernier type de transfert. Nous avons montré que les bactériophages codent des protéines atypiques de recombinaison homologue, que l'on peut classer en trois grandes familles distinctes (Lopes et al., 2010). Toutes sont capables de faire de l'appariement simple brin, contrairement à RecA, la recombinase bactérienne. De plus, ces recombinaisons phagiques permettent l'échange de matériel génétique entre séquences fortement divergées (une divergence de 20% est tolérée). Nous proposons que la recombinaison homologue phagique engendre le fort mosaïcisme observé de longue date dans les génomes de phages tempérés, permettant le transfert horizontal au sein même des vecteurs du transfert horizontal, et par là même un brassage accru des gènes potentiellement critiques pour l'évolution des bactéries hôtes (toxines, autres morons, éventuellement gènes de résistance).

Références bibliographiques :

Martinsohn, J.T., M. Radman, and M.A. Petit, The lambda red proteins promote efficient recombination between diverged sequences: implications for bacteriophage genome mosaicism. PLoS Genet, 2008. 4(5): p. e1000065.

Lopes, A., et al., Detection of novel recombinases in bacteriophage genomes unveils Rad52, Rad51 and Gp2.5 remote homologs. Nucleic Acids Res, 2010. 38(12): p. 3952-62.

Mots-clés : échange de gène, bactériophage, recombinaison homologue

O23 - Dynamique de mise en œuvre des hémicellulases de *Thermobacillus xylanilyticus* pour le fractionnement des parois végétales

Pierre-Vincent Revol, Harivony Rakotoarivonina, Caroline Rémond

pierre-vincent.revol@reims.inra.fr

INRA, UMR614 FARE, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims France

Comm orale
Doctorant

L'un des grands défis scientifiques de notre époque est de valoriser les agro-ressources afin de remplacer l'utilisation du carbone fossile par du carbone renouvelable. Les parois secondaires des végétaux qui forment l'essentiel de la biomasse lignocellulosique sont composées de trois polymères complexes qui sont la cellulose, les hémicelluloses et les lignines. Les hémicelluloses représentent l'un des polymères les plus abondants sur terre, et sont une source de molécules encore peu utilisées. Le concept de bioraffinerie végétale repose sur la valorisation de la plante entière. La première étape de la valorisation est le fractionnement de la biomasse lignocellulosique qui vise à obtenir des sucres fermentescibles et des synthons. Le fractionnement biologique utilise des procédés enzymatiques dont le développement nécessite la production de biocatalyseurs efficaces et robustes. *Thermobacillus xylanilyticus* est une bactérie thermophile du sol capable de produire des enzymes hémicellulolytiques thermostables et thermorésistantes comprenant des glycoside hydrolases et des estérases. Afin d'étudier le système hémicellulolytique et de valoriser le potentiel enzymatique de cette bactérie, différentes approches sont développées à l'UMR FARE : (1) une étude physiologique afin de caractériser la croissance de la bactérie en présence de substrats lignocellulosiques contrastés de par leur composition, associée à une étude des profils d'activités enzymatiques produites, (2) la caractérisation des panels hémicellulolytiques produits et l'évaluation de leur efficacité sur différents substrats lignocellulosiques. En parallèle, le séquençage du génome et l'étude des expressions des gènes codant les hémicellulases lors de divers stades de la croissance de la bactérie sur lignocelluloses sont en cours et permettront d'identifier les enzymes d'intérêts en vue de reconstituer des mélanges optimaux d'hémicellulases.

Les travaux déjà réalisés indiquent que *T. xylanilyticus* est capable de croître en utilisant comme unique source de carbone du son et de la paille de blé non prétraités dont les compositions et teneurs respectives en hétéroxylanes et lignines diffèrent. Au cours de la croissance, l'analyse des résidus montre que *T. xylanilyticus* utilise 49 % des polysaccharides totaux du son de blé et 20 % de ceux de la paille de blé. Il a également été montré que le panel d'enzymes hémicellulolytiques produit par la bactérie varie en fonction du substrat de croissance. L'activité xylanase est l'activité principale sur chacun des substrats testés. En revanche, des modifications apparaissent au niveau des activités des enzymes accessoires telles que les estérases ou arabinofuranosidases. La caractérisation biochimique des panels enzymatiques produits lors de la croissance sur les deux substrats a confirmé les différences d'activités observées et a permis de définir des conditions optimales d'utilisation pour chacun d'eux.

A terme, ces études permettront de mieux comprendre la dynamique des enzymes responsables de la dégradation des parois végétales par *Thermobacillus xylanilyticus* et de confectionner des cocktails enzymatiques efficaces et adaptés pour le fractionnement de divers types de biomasses lignocellulosiques.

Mots-clés : Hémicellulases, fractionnement biologique, lignocellulose

O24 - The Group B antigen of *Streptococcus agalactiae*: a peptidoglycan-anchored polysaccharide involved in cell wall biogenesis

Élise Caliot^a, Shaynoor Dramsi^a, Marie-Pierre Chapot-Chartier^{c,d}, Pascal Courtin^{c,d}, Saulius Kulakauskas^{c,d}, Christine Péchoux^e, Patrick Trieu-Cuot^{ab}, **Michel-Yves Mistou**^{c,d}

Michel-Yves.Mistou@jouy.inra.fr

^a Institut Pasteur, Unité des Bactéries Pathogènes à Gram positif, 25 rue du Dr Roux, 75015 PARIS, France

^b CNRS ERL 3526, Unité des Bactéries Pathogènes à Gram positif, 25 rue du Dr Roux, 75015 PARIS, France

^c INRA, UMR1319, MICALIS, F-78350 Jouy-en-Josas, France

^d AgroParisTech, UMR MICALIS, F-78350 Jouy-en-Josas, France

^e INRA, Plate-forme MIMA2, F-78350 Jouy-en-Josas, France

Streptococcus agalactiae (Group B streptococcus, GBS) is a commensal of numerous animal species. The Lancefield Group B carbohydrate (GBC) is a peptidoglycan-anchored antigen that defines this species as a Group B Streptococcus. Despite earlier immunological and biochemical characterizations, the function of this abundant glycopolymer has never been addressed experimentally. Here, we inactivated the gene *gbcO* encoding a putative UDP-N-acetylglucosamine-1-phosphate:lipid phosphate transferase thought to catalyze the first step of GBC synthesis. Indeed, the *gbcO* mutant was unable to synthesize the GBC polymer, and displayed an important growth defect *in vitro*. Electron microscopy study of the GBC-depleted strain of *S. agalactiae* revealed a series of growth-related abnormalities: random placement of septa, defective cell division and separation processes, and aberrant cell morphology. Furthermore, vancomycin labeling and peptidoglycan structure analysis demonstrated that, in the absence of GBC, cells failed to initiate normal PG synthesis and cannot complete polymerization of the murein sacculus. Finally, the subcellular localization of the PG hydrolase PcsB, which has a critical role in cell division of streptococci, was altered in the *gbcO* mutant. Collectively, these findings show that GBC is an essential component of the cell wall of *S. agalactiae* whose function is reminiscent of that of conventional wall teichoic acids found in *Staphylococcus aureus* or *Bacillus subtilis*. Furthermore, our findings raise the possibility that GBC-like molecules play a major role in the growth of most if not all beta –hemolytic streptococci.

Références bibliographiques :

Lancefield RC. A serological differentiation of specific types of bovine hemolytic streptococci (group b). J Exp Med. 1934 Mar 31;59(4):441-58.

Caliot E, Dramsi S, Chapot-Chartier MP, Courtin P, Kulakauskas S, Péchoux C, Trieu-Cuot P, Mistou MY. Role of the Group B Antigen of *Streptococcus agalactiae*: A Peptidoglycan-Anchored Polysaccharide Involved in Cell Wall Biogenesis. PLoS Pathog. 2012 Jun;8(6):e1002756. Epub 2012 Jun 14.

Mots-clés : cell wall, polysaccharide, GbcO, cell division, PcsB

Posters – Session 4

(par ordre alphabétique des auteurs-présentateurs)

P79 - Effet de l'oxygène sur la sporulation de *Bacillus cereus*

Amina Abbas¹, Michel Jobin¹, Philippe Schmitt¹

amina.abbas@avignon.inra.fr

Poster
Doctorant

¹ INRA, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, UMR408, Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, F-84914 Avignon, France.

Bacillus cereus est une bactérie à Gram positif, sporulante, anaérobie facultative. Le groupe *B. cereus* sensu lato inclus sept espèces extrêmement proches génétiquement: *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. cytotoxicus* et *B. cereus sensu stricto* (1). De récents travaux ont permis de classer ces souches dans sept groupes phylogénétiques possédant une gamme de température propre à chacun(2).

Les spores constituent une préoccupation majeure dans l'industrie alimentaire à cause de leur extrême résistance à la chaleur, aux UV, aux traitements chimiques et à l'acidité ainsi que leur persistance dans l'environnement (3, 4, 5).

L'objectif de ce travail est de comprendre l'effet de l'oxygène sur la sporulation des souches de *Bacillus cereus*.

Dans un premier temps, un milieu favorable à la sporulation appelé MOD² a été mis au point. Une étude de la capacité de sporulation de *B. cereus* en absence et présence d'oxygène a été réalisée. 25 souches appartenant aux différents groupes de *B. cereus* ont été testées. Les résultats montrent qu'en aérobiose, une bonne sporulation des souches est obtenue avec une moyenne de 10⁸ spores/ml de milieu. En anaérobiose, il y a peu ou pas de sporulation avec une grande hétérogénéité dans la capacité à sporuler au niveau des groupes. La meilleure candidate est la souche F4810/72 qui produit en anaérobiose environ 10⁵ spores /ml de culture avec un rendement de 7% environ.

Les spores de la F4810/72 produites en présence et absence d'oxygène ont été caractérisées quant à leur thermorésistance. On remarque une meilleure thermorésistance des spores produites en anaérobiose.

Références bibliographiques :

1. Guinebretière, M.-H., et al., *Bacillus cytotoxicus* sp. nov. is a new thermotolerant species of the *Bacillus cereus* group occasionally associated with food poisoning. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2012.
2. Guinebretière, M.-H., et al., Ecological diversification in the *Bacillus cereus* Group. *Environmental Microbiology*, 2008. 10(4): p. 851-865.
3. Higgins, D. and J. Dworkin, Recent progress in *Bacillus subtilis* sporulation. *FEMS Microbiology Reviews*, 2012. 36(1): p. 131-148.
4. Marquis, R.E., J. Sim, and S.Y. Shin, Molecular mechanisms of resistance to heat and oxidative damage. *Journal of Applied Microbiology*, 1994. 76: p. 40S-48S.
5. Nicholson, W.L., et al., Resistance of *Bacillus* Endospores to Extreme Terrestrial and Extraterrestrial Environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000. 64(3): p. 548-572.

Mots-clés : sporulation, anaérobiose, résistance, *Bacillus cereus*

P80 - La flore microbienne fromagère est-elle capable de survivre aux stress digestifs ?

Nadège Adouard¹, Pascal Bonnarme¹, Marielle Bouix¹, Daniel Picque¹,
Benoît Foligne²

Poster
Doctorant

nadege.adouard@grignon.inra.fr

¹INRA, AgroParisTech, UMR782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, F-78850 Thiverval Grignon

²Institut Pasteur de Lille (IPL), UMR 804 Center for Immunity and Infection F-59019 Lille

Les écosystèmes microbiens alimentaires représentent une source importante de micro-organismes d'une grande diversité. L'objectif de ce travail est d'étudier la réponse au stress digestif de micro-organismes constitutifs du fromage. Trente cinq micro-organismes (douze levures, huit Firmicutes, neuf Actinobactéries et trois Protéobactéries) assignés à treize espèces différentes, connues pour être les plus représentatives de l'écosystème des fromages à pâte molle [1,2] ont été sélectionnés pour cette étude.

Deux méthodes de reconstitution *in vitro* du stress gastrique et duodénal ont été comparées. Le stress « statique », classiquement utilisé [3], a été réalisé en fiole en reconstituant un jus gastrique et un jus duodénal synthétiques dans deux compartiments distincts. Le stress « dynamique », réalisé au sein du Digesteur-Dynamique-Gastro-Intestinal (DIDGI) a permis une prise en compte de l'aspect cinétique de la digestion [4,5]. Enfin, l'effet protecteur d'un gel laitier sur la survie des souches sélectionnées, a également été évalué. Par ailleurs, la mise en contact des micro-organismes sélectionnés avec des « Peripheral Blood Mononuclear Cell » PBMCs a permis d'établir leur profil immunomodulateur.

Le screening « statique » a mis en évidence une résistance de l'ensemble des espèces de levures étudiées. Une plus grande diversité de réponse a été observée chez les bactéries. Les tests réalisés en gel laitier ont montré une protection des micro-organismes vis-à-vis du stress gastrique.

Les tests « dynamiques » corroborent les résultats du screening statique en précisant l'incidence de la cinétique des stress sur la viabilité.

Les travaux menés sur PBMCs ont mis en évidence des réponses de type majoritairement anti-inflammatoire aussi bien pour les levures que pour les bactéries. Seuls deux Firmicutes ont donné une réponse plutôt pro-inflammatoire.

Ces techniques n'avaient encore jamais été utilisées pour l'étude de micro-organismes d'affinage et les résultats obtenus sont encourageant. Une validation sur modèle murin au microbiote standardisé est prévue prochainement. En parallèle, des essais de préadaptation à une matrice fromagère seront réalisés en utilisant des associations microbiennes au profil survie/immunomodulation les plus intéressants.

Références bibliographiques :

- [1] Beresford, T. P., N. A. Fitzsimons, et al. (2001). "Recent advances in cheese microbiology." *International Dairy Journal* 11(4): 259-274.
- [2] Irlinger, F. and J. Mounier (2009). "Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety." *Current Opinion in Biotechnology* 20(2): 142-148.
- [3] Charteris, W. P., P. M. Kelly, et al. (1998). "Development and application of an *in vitro* methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract." *J Appl Microbiol* 84(5): 759-68.
- [4] Minekus, M. (1995). "A multi-compartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine." *Alternatives to Laboratory Animals (ATLA)* 23: 197-209.
- [5] Venema, K., R. Havenaar, et al. (2009). "Improving *in vitro* simulation of the stomach and intestines. Designing functional foods: measuring and controlling food structure breakdown and nutrient absorption": 314-339. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition No. 177, ISBN-13 978-1-84569-432-6

Mots-clés : écosystème fromager, stress digestif, viabilité, simulateur gastro-intestinal, immunomodulation

P81 - Effect of *ramR* mutations on efflux genes expression and on fluoroquinolone susceptibility in *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198

Sylvie Baucheron-Monnier^{1,2}, S. Le Hello³, B. Doublet^{1,2}, E. Giraud^{1,2}, F.X. Weill³, A. Cloeckaert^{1,2}

sylvie.baucheron@tours.inra.fr

¹INRA, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly, France

²Université François Rabelais de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37000 Tours, France

³Institut Pasteur, Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques, Centre National de référence des *Salmonella*, Paris, France.

Background. Efflux is a mechanism that has been previously reported to increase fluoroquinolone (FQ) resistance levels when it is upregulated in clinical isolates of *Salmonella enterica* mainly of serotype Typhimurium (1). In this study efflux related genes were investigated in the emerging FQ-resistant epidemic *S. enterica* serotype Kentucky ST198 clone (2) for the presence of mutations in their regulatory genes, and for their expression levels.

Methods. Among a representative panel of thirty serotype Kentucky strains from Egypt or east Africa with decreased FQ susceptibility, three strains overproducing the AcrAB-TolC efflux system were detected and studied (3). Two FQ-resistant strains with substitutions in QRDR and with basal expression level of AcrAB-TolC and the susceptible reference strain 98K were used as control. Genetic relatedness was determined by XbaI-pulsed field gel electrophoresis and multilocus sequence typing. Presence of mutations in the *ramRA*, *soxRS*, *marOR* loci and *acrR*, *acrS* genes were assessed by sequencing. The six strains and their wild-type *ramR* gene complemented derivatives were analysed by (i) qRT-PCR for gene expression of regulatory and efflux genes and by (ii) MIC determinations of quinolones, FQ and florfenicol as other substrate of AcrAB-TolC.

Results. All serotype Kentucky strains studied were of sequence type X1-ST198, excepted the 98K strain which was X4-ST198. Among the thirty *S. Kentucky* strains, three overproduce AcrAB-TolC (3). All three strains presented different mutations in the *ramR* gene in comparison to the reference strain 98K. The three detected mutations (deletion of 91 bp, insertion of 1 bp or 4 bp) resulted in frame shift of the *ramR* gene. All other efflux regulatory genes were not mutated. As confirmed by complementation with a wild-type *ramR* gene, all three mutations were responsible for increased expression of *ramA* and *acrAB*. Increased expression of *tolC* and *acrEF* genes was observed in 2 out of the 3 strains. All three mutations were shown to increase two-fold the MICs of FQ and florfenicol in comparison to the *ramR* complemented derivatives and the reference strain. The two strains with a basal expression level of AcrAB-TolC presented any mutation in sequenced genes. The only strain presenting 3 substitutions in QRDR associated with 1 mutation in *ramR* upregulating AcrAB-TolC led to the higher level FQ resistance.

Conclusion. Various novel *ramR* mutations, responsible for increased efflux, were detected in the emerging epidemic serotype Kentucky ST198 clone. As previously reported in other FQ-resistant strains of serotypes Typhimurium or Schwarzengrund, *ramR* mutations seem to be sporadic (10 % in this study) and contribute only to a little extent to the decreased FQ susceptibility.

Références bibliographiques :

- (1) Abouzeed *et al.* 2008. Antimicrob. Agents Chemother. 52(7): 2428-2434.
- (2) Le Hello *et al.* 2011. J. Infect. Dis. 204(5): 675-84.
- (3) Collard *et al.* 2007. J. Antimicrob. Chemother. 60(5): 1183.

Mots-clés : *Salmonella*, antibiotic resistance, active efflux mechanism, transcriptional regulation, gene mutations

P82 - L5P a specific lipopeptide of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: feature and innovative diagnosis applications

Franck Biet¹, Christelle Ganneau², Thierry Cochard¹, Faridabano Nato³ and Sylvie Bay²

Franck.biet@tours.inra.fr

¹INRA, UR1282, Infectiologie Animale, Santé Publique (IASP-311), F-37380 Nouzilly, France

²Unité de Chimie des Biomolécules CNRS URA2128, Institut Pasteur Paris, France

³Plate-Forme 5 - Production de Protéines recombinantes et d'Anticorps, Institut Pasteur, Paris, France

Johne's disease or paratuberculosis, caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*), is a major worldwide health problem of domestic and wild animals. All control programmes developed until now against this large epizootic have failed due to the lack of sensitive and specific diagnostic assays and to the lack of an efficient vaccine [1]. The research of new cell wall antigens represent an original alternative to protein antigens typically used in commercial sero-diagnostic tests. Many non-tuberculous mycobacteria such as *Mycobacterium avium* subsp. *avium* (*Mav*) synthesize abundant glycopeptidolipids (GPLs). These surface-located GPLs are involved in pathogenicity by interfering with the host immune system. In *Mav*, GPLs consist of a lipopeptide core composed of a tetrapeptide O-linked to mono- and oligo-saccharides. The biosynthesis pathway of the simplest GPLs is now relatively well understood and involves probably more than fifteen genes [2].

Biochemical analysis of a large set of characterized *Map* isolates showed that all *Map* strains tested produce a lipopentapeptide (L5P) instead of GPLs. To provide a genomic basis for the synthesis of this compound, the published genome sequence of *Map* was explored using *in silico* methods. Even though *Map* produces a lipopeptide rather than GPL, its genome contains nevertheless a locus highly similar to the GPL biosynthetic pathway of *Mav*. We showed that the module composition of the non-ribosomal protein synthase (Nrp) of *Map*, the enzyme involved in the synthesis of the peptidyl moiety, is dramatically different from that of other GPL producers such as *M. smegmatis* (*Ms*) and *Mav* and is in agreement with the amino acid content of the L5P. To circumvent the problems of challenging native purification, L5P was chemically synthesized which allows the large-scale production of pure L5P [3].

We further showed that L5P is the target for a highly specific humoral response involving IgM, IgG1 and IgG2 antibodies in *Map*-infected animals, and that the major epitopes of the L5P are localized in the peptidyl moiety of the molecule. We also showed L5P is the target for a specific humoral response in a subset of human patients with Crohn disease (CD).

The L5P, a molecular signature of *Map*, will open the way to an innovative ELISA diagnosis based on a novel synthetic antigen to unambiguously distinguish *Map* from *Mav*, *M. bovis* or other environmental mycobacteria in sera from livestock or from CD patients [4]. T cell assay and direct detection using specific monoclonal antibodies available should complete diagnosis of *Map* from blood, milk, and lesions.

Références bibliographiques :

1. Ripoll F, Deshayes C, Pasek S, Laval F, Beretti JL, Biet F, Risler JL, Daffe M, Etienne G, Gaillard JL *et al*: Genomics of glycopeptidolipid biosynthesis in *Mycobacterium abscessus* and *M. chelonae*. *BMC Genomics* 2007, 8(1):114.
2. Nielsen SS, Toft N: Age-specific characteristics of ELISA and fecal culture for purpose-specific testing for paratuberculosis. *Journal of dairy science* 2006, 89(2):569-579.
3. Biet F, Bay S, Thibault VC, Euphrasie D, Grayon M, Ganneau C, Lanotte P, Daffe M, Gokhale R, Etienne G *et al*: Lipopentapeptide induces a strong host humoral response and distinguishes *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from *M. avium* subsp. *avium*. *Vaccine* 2008, 26(2):257-268.
4. F. Biet, Bay S and Reytrat J-M., Patent PCT/IB2008/003396

Mots-clés : *Mycobacterium*, paratuberculose, lipide, diagnostic

P83 - Inter- and Intra-subtype genotypic differences that differentiate *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* strains

Franck Biet¹, Iker A. Sevilla², Thierry Cochard¹, Louise H. Lefrançois¹, Joseba M. Garrido², Ian Heron³, Ramón A. Juste², Joyce McLuckie³, Virginie C. Thibault¹, Philip Supply⁴, Desmond M. Collins⁵, Marcel A. Behr⁶, Karen Stevenson³

franck.biet@tours.inra.fr

¹INRA, UMR1282, Infectiologie Santé Publique (ISP-311), F-37380 Nouzilly, France.

²Neiker-tecnalia, Dpto. de Producción y Sanidad Animal, Berreaga 1, 48160 Derio, Bizkaia, Spain.

³Moredun Research Institute, Pentlands Science Park, Bush Loan, Penicuik, EH26 0PZ Scotland, United Kingdom.

⁴INSERM U629 and Institut Pasteur de Lille, 1, rue du Professeur Calmette F-59019 Lille, Cedex, France.

⁵AgResearch, Wallaceville, P.O. Box 40063, Upper Hutt, New Zealand

⁶McGill University, Montreal, Quebec H3G 1A4, Canada

Background : *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (Map) is the aetiological agent of Johne's disease or paratuberculosis and is included within the *Mycobacterium avium* complex (MAC). Map strains are of two major types often referred to as 'Sheep' or 'S-type' and 'Cattle' or 'C-type'. With the advent of more discriminatory typing techniques it has been possible to further classify the S-type strains into two groups referred to as Type I and Type III. This study was undertaken to genotype a large panel of S-type small ruminant isolates from different hosts and geographical origins and to compare them with a large panel of well documented C-type isolates to assess the genetic diversity of these strain types. Methods used included Mycobacterial Interspersed Repetitive Units - Variable-Number Tandem Repeat analysis (MIRU-VNTR), analysis of large sequence polymorphisms by PCR (LSP analysis), single nucleotide polymorphism (SNP) analysis of *gyr* genes, Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and Restriction Fragment Length Polymorphism analysis coupled with hybridization to IS900 (IS900-RFLP) analysis.

Results : The presence of LSP^A4 and absence of LSP^A20 was confirmed in all 24 Map S-type strains analysed. SNPs within the *gyr* genes divided the S-type strains into types I and III. Fifteen PFGE multiplex profiles and eleven different IS900-RFLP profiles were identified among the S-type isolates, some of them not previously published. Both PFGE and IS900-RFLP segregated the S-type strains into types I and III and the results concurred with those of the *gyr* SNP analysis. Nine MIRU-VNTR genotypes were identified in these isolates. MIRU-VNTR analysis differentiated Map strains from other member of *Mycobacterium avium* Complex, and Map S-type from C-type but not type I from III. Pigmented Map isolates were found to be either type I or III.

Conclusion : This is the largest panel of S-type strains investigated to date and the results concur with the division of Map strains into two major lineages comprising S-type and C-type strains. The S-type strains could be further divided into two subtypes, I and III by some of the typing techniques (IS900-RFLP, PFGE and SNP analysis of the *gyr* genes). Pigmentation is not exclusively associated with type I strains.

Mots-clés : *Mycobacterium*, *paratuberculosis*, genotyping, S type

P84 - Rôle de KuA dans la réponse aux agents génotoxiques chez *Streptomyces ambofaciens*

Ludovic Chipot¹, Lingli Zhang¹, Emilie Piotrowski¹, Claire Bertrand¹,

Fabrice Confalonieri², Annabelle Thibessard¹ and Pierre Leblond¹

Poster
Doctorant

ludovic.chipot@univ-lorraine.fr, leblond@univ-lorraine.fr

¹Génétique et Microbiologie, UMR INRA-UL 1128, Université de Lorraine, Faculté des Sciences et Technologies, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy

²Institut de Génétique et Microbiologie UMR 8621, Université Paris-Sud XI, Laboratoire de Génomique des Archaea, 91405 Orsay Cedex

L'importance de la recombinaison illégitime par NHEJ (pour Non-Homologous End-Joining) dans la réparation des cassures double brin chez les bactéries a été révélée chez *Mycobacterium tuberculosis* et *Bacillus subtilis* durant la dernière décennie (Weller *et al.*, 2002). Les protéines Ku, homologues des protéines eucaryotes KU70 et KU80, sont impliquées dans ce mécanisme.

L'analyse du génome de *Streptomyces ambofaciens* révèle l'existence de 3 gènes *ku*-like dont un seul est conservé dans les génomes de *Streptomyces* totalement séquencés. Nous avons appelé le locus conservé *kuA*, et son rôle dans la résistance aux agents génotoxiques a été recherché. Des spores de souches délétées du locus *kuA* montrent une sensibilité accrue aux agents ionisants (facteur 5) et à la mitomycine C (facteur 2,5) comparées à la référence sauvage. La construction de fusions traductionnelles KuA-eGFP a permis de visualiser la protéine KuA dans les seules spores, ce qui corrobore les analyses transcriptionnelles qui montrent un profil d'expression dépendant de la phase de croissance avec une induction à l'entrée de la phase stationnaire.

L'ensemble de ces résultats suggère que KuA participe à un mécanisme de résistance aux agents génotoxiques engendrant des cassures double brin. L'implication de ce mécanisme dans l'évolution et la plasticité du génome des streptomycètes sera discutée.

Références bibliographiques :

Weller GR, Kysela B, Roy R, Tonkin LM, Scanlan E, Della M, Krogh Devine S, Day JP, Wilkinson A, d'Adda di Fagagna F, Devine KM, Bowater RP, Jeggo PA, Jackson SP and Doherty AJ (2002) *Science*, 297(5587): 1686-1689.

Mots-clés : *Streptomyces*, non-homologous end-joining, mitomycine C, rayons ionisants

P85 - Lipopolysaccharide heterogeneity in the atypical group of novel emerging *Brucella* species

Michel S. Zygmunt^{a,b,*} Isabelle Jacques^{a,b,c} Nelly Bernardet^{a,b} & **Axel Cloeckaert**^{a,b}

Axel.Cloeckaert@tours.inra.fr

^a INRA, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly, France

^b Université François Rabelais de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37000 Tours, France

^c IUT de Tours, 29 rue du Pont Volant, F-37082 Tours, France

Recently novel *Brucella* strains have been reported with phenotypic characteristics that were atypical for strains belonging to the genus *Brucella*. Phenotypically many of these strains were initially misidentified as *Ochrobactrum* spp. Two novel species have been described so far for these strains, i.e. *B. microti* and *B. inopinata*, and other strains genetically related to *B. inopinata* may constitute other novel species as well. In this study we analysed the lipopolysaccharides (LPS; smooth (S) and rough (R)) of these atypical strains using different methods and a panel of monoclonal antibodies (MAbs) directed against several epitopes of the *Brucella* O-polysaccharide (O-PS) and R-LPS. Among the most striking results, *Brucella* spp. strain BO2 isolated from a patient with chronic destructive pneumonia, showed a complete distinct S-LPS profile in silver stain gels that looked more similar to enterobacterial S-LPS. This strain failed also to react with MAbs against *Brucella* O-PS epitopes and showed weak reactivity with anti-R-LPS MAbs. *B. inopinata* reference strain BO1 displayed an M-dominant S-LPS type with some heterogeneity relative to the classical M-dominant *Brucella* S-LPS type. Australian wild rodent strains belonging also to the *B. inopinata* group showed a classical A dominant S-LPS but lacked the O-PS common (C) epitopes as previously reported for *B. suis* biovar 2 strains. Interestingly, some strains failed also to react with anti-R-LPS MAbs, like the *B. microti* reference strain and *B. inopinata* BO1 suggesting modifications in the core-lipid A moiety of these strains. These results have several implications for serological typing and serological diagnosis and underline the need of novel tools for detection and correct identification of such novel emerging *Brucella* spp.

Mots-clés : *Brucella*, lipopolysaccharide, novel species

P86 – Horizontal gene transfer mediated by bacteriophages in the mouse gut

Marianne De Paepe, Marie-Agnès Petit

marianne.depaepe@jouy.inra.fr

INRA, MICA, Micalis, Jouy-en-Josas

Comparative genomics has shown that temperate phages are key players in bacterial genomes evolution, as prophages represent an important part of the genome diversity at the species level. However, relatively few studies monitoring temperate phage transfer from one strain to another in ecologically relevant conditions exist. With the model bacteriophage lambda, we show that induction of the prophage and subsequent lysogenisation of a naïve strain is very efficient in monoxenic mouse gut during the first days of colonization. Moreover, we show that during the induction process, lambda can recombine with defective prophages of its bacterial host, within regions of approximately 80% of identity. This recombination event is dependent from the phage recombinase, Red β , but mostly independent from the bacterial recombinase RecA. The subsequent lysogenisation of a new strain by such recombinant phage leads therefore to the transfer of genes from one strain to another. This process is different from a simple lysogenization, since the gene transferred is not initially present in the phage genome, and thus represent a new role for phages in genomes evolution.

Mots-clés : prophages, homologous recombination, gut microbiota

P87 - Réponse physiologique de *Bacillus cereus*, au froid en absence d'oxygène.

Benoît de Sarrau^{1,2}, Thierry Clavel^{1,2}, Christophe Nguyen-thé^{1,2}

benoit.desarrau@avignon.inra.fr

Poster
Doctorant

¹ INRA, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, F-84000 Avignon

² Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, F-84000 Avignon

L'adaptation de *Bacillus cereus* au froid nécessite la conservation d'une fluidité membranaire optimale, notamment par l'augmentation des acides gras insaturés via des désaturases. Ces enzymes étant non fonctionnelles sans oxygène, se pose la question de l'adaptation de *B. cereus* au froid en anaérobiose, conditions de conservation de nombreux aliments.

Le froid et l'anaérobiose agissent en synergie pour limiter la biomasse. La proportion d'acides gras insaturée est réduite en anaérobiose, la synthèse des acides gras ramifiés est réduite par l'association froid/anaérobiose, sans doute à cause de la perturbation du métabolisme fermentaire au froid qui se traduirait par une baisse de l'oxydation du NADH en NAD⁺. Les mesures de fluidité *in vivo* confirment que l'association froid/anaérobiose ne permet pas d'adaptation des membranes.

En anaérobiose, dans l'épinard, à 15°C et 37°C *B. cereus* atteint la même population. Cette amélioration de la croissance au froid+anaérobiose par rapport au milieu de laboratoire serait due aux lipides de l'épinard. Diverses sources d'acides gras insaturés permettent à *B. cereus* d'améliorer sa croissance au froid en anaérobiose : des triglycérides directement intégrés dans la membrane, des phospholipides intégrés après remaniement avec accumulation de diacyl-glycérol, mais pas les acides gras libres.

Le froid perturbe le métabolisme fermentaire et l'anaérobiose perturbe l'adaptation au froid, aboutissant en un effet synergique des deux stress sur la croissance de *B. cereus*. La bactérie peut surmonter ces effets par l'intégration de divers lipides dans sa membrane, résultant en des compositions lipidiques très éloignées de la membrane qu'elle synthétise par elle-même.

Références bibliographiques :

de Sarrau, B., T. Clavel, C. Clerté, F. Carlin, C. Giniès, and C. Nguyen-the. 2012. Influence of anaerobiosis and low temperature on *Bacillus cereus* growth, metabolism, and membrane properties. *Applied and Environmental Microbiology* 78:1715-1723

Mots-clés : *Bacillus cereus*, froid, anaérobiose, membrane, métabolisme

P88 - Caractérisation du gène *cyp684* responsable de la résistance au fenhexamid chez l'espèce *Botrytis pseudocinerea*

Saad Azeddine & Alexis Billard, Pauline Solignac, Jocelyne Bach, Catherine Lanen, Anne-Sophie Walker, Sabine Fillinger & **Danièle Debieu**

debieu@versailles.inra.fr

INRA UR1290 BIOGER-CCP, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon

La pourriture grise est une maladie qui affecte la vigne et de nombreuses autres cultures. Elle est provoquée par un complexe fongique incluant deux espèces caractéristiques *Botrytis cinerea* et *Botrytis pseudocinerea*. Les deux espèces morphologiquement indistinguables peuvent être différenciées par leur sensibilité à certains fongicides notamment au fenhexamid. Le fenhexamid est l'un des fongicides les plus récents utilisé pour contrôler la pourriture grise. Il appartient à la famille des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (IBS), il inhibe la 3-céto réductase intervenant dans les étapes de la C-4 déméthylation des stérols.

Dans ce complexe, *B. cinerea* est l'espèce majoritaire. Elle est sensible au fenhexamid, par contre *B. pseudocinerea* est résistant au fenhexamid. Des études ont montré pour *B. pseudocinerea* un effet synergique fort entre le fenhexamid et une autre classe d'IBS, les inhibiteurs de la Cyp51 codant la 14 α -déméthylase des stérols, une monooxygénase à cytochrome P450. Nous avons émis l'hypothèse que le mécanisme de la résistance implique une protéine similaire à la protéine Cyp51 capable de métaboliser le fenhexamid chez *B. pseudocinerea*. Le gène le plus similaire au gène *cyp51* nommé *cyp684* a été délété chez *B. pseudocinerea* se traduisant par la perte de la résistance et de la capacité à métaboliser le fenhexamid. Ces résultats montrent que le gène *cyp684* est impliqué dans la résistance au fenhexamid chez *B. pseudocinerea*. Chez *B. cinerea* sensible au fenhexamid, le gène *cyp684* est également présent. La comparaison des deux séquences génomiques du gène *cyp684* entre les deux espèces a révélé plusieurs polymorphismes : i) la région promotrice du gène *cyp684* chez *B. pseudocinerea* se caractérise par une délétion de 25pb. ii) l'alignement des séquences peptidiques (Cyp684) a révélé la présence de plusieurs acides aminés différents entre les deux espèces. Ceci pourrait influencer l'activité intrinsèque de Cyp684 et/ou le profil d'expression du gène *cyp684* expliquant les différentes sensibilités entre les deux espèces.

Références bibliographiques :

Debieu D., Bach J., Hugon M., Malosse C. and Leroux P., 2001. The hydroxylanilide fenhexamid, a new sterol biosynthesis inhibitor fungicide efficient against the plant pathogenic fungus *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*). *Pest Management Science* **57** : 1060-1067.

Walker A. S., Gautier A., Confais J., Martinho D., Viaud M., Le pêcheur P., Dupont J., and Fournier E. 2011. *Botrytis pseudocinerea*, a new cryptic species causing grey mould in French vineyards in sympatry with *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* **101** : 1433-1445.

Mots-clés : pourriture grise, *Botrytis pseudocinerea*, résistance, fenhexamid, cytochrome P450

P89 - Adaptation de *Bacillus cereus* au froid : mécanismes moléculaires impliqués et exploitation de la diversité génétique du groupe *Bacillus cereus*

Sara Esther Diomande^{1,2}, Véronique Broussole^{1,2}, Julien Brillard^{1,2}

sara-esther.diomande@avignon.inra.fr

Poster
Doctorant

¹ INRA, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, F-84000 Avignon, France

² Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, UMR408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, F-84000 Avignon, France.

Bacillus cereus, bacille ubiquitaire, est un contaminant fréquent des aliments. Sa capacité à sporuler lui permet de survivre lors de la transformation des aliments. Il est également capable de s'adapter à différents types d'environnements. *B. cereus sensu lato* est divisé en sept groupes phylogénétiques qui peuvent être catégorisés en trois thermotypes : thermotolérants, mésophiles et psychrotrophes[1].

B. cereus représente le 4e agent responsable de TIAC (Toxi-Infection Alimentaire Collective) en France, mais les doses infectieuses ($>5.10^4$ UFC) nécessitent qu'une prolifération ait eu lieu dans l'aliment avant ingestion par le consommateur. Les souches psychrotrophes, potentiellement capables de croître durant la conservation des aliments à basses températures représentent ainsi un risque de TIA.

Le système à deux composants YhcY/Z est un système senseur/régulateur homologue au système Des K/R décrit chez *Bacillus subtilis* pour son rôle dans l'adaptation de cette souche au froid[2]. La caractérisation de ce système majoritairement conservé chez *B. cereus sensu lato* est en cours. Nos résultats indiquent qu'il est surexprimé aux basses températures chez *Bacillus cereus* ATCC 14579. De plus, des mutants de ce système, construits chez deux souches de groupes phylogénétiques différents, sont affectés dans leur croissance et leur survie aux basses températures.

Références bibliographiques :

1. Guinebretière, M.-H., et al., *Ecological diversification in the Bacillus cereus Group*. Environmental Microbiology, 2008. **10**(4): p. 851-865.
2. Cybulski, L.E., et al., *Bacillus subtilis DesR Functions as a Phosphorylation-activated Switch to Control Membrane Lipid Fluidity*. Journal of Biological Chemistry, 2004. **279**(38): p. 39340-39347.

Mots-clés : *Bacillus cereus*, adaptation, froid, systèmes à deux composants

P90 - *Salmonella* genomic island 1 : a successful antimicrobial resistance genes vehicle

Benoît Doublet, Gregory Douard, and Axel Cloeckeaert

Benoit.Doublet@tours.inra.fr

INRA, Université de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, Plasticité Génomique Biodiversité Antibiorésistance, Nouzilly, France.

The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element (IME) originally identified in epidemic multidrug-resistant (MDR) *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104.¹ SGI1 contains a complex integron, which confers various multidrug resistance phenotypes due to its great genetic plasticity. Recently, SGI1 was also identified in the emerging MDR serovar Kentucky ST198 displaying high-level resistance to ciprofloxacin.²

The occurrence of SGI1 in several *S. enterica* serovars and recently in *Proteus mirabilis* has led to demonstrate its horizontal transfer capacity.¹ SGI1 excises from the donor chromosome to form a circular extrachromosomal intermediate that can be mobilized *in trans* to the recipient in a specific manner only by the IncA/C multidrug resistance plasmid family.^{1,3} In the recipient, SGI1 integrates site-specifically into the chromosome at the 3' end of the *trmE* gene.

As other IMEs, SGI1 possesses its own mobilization functions. Based on mobilization assays of a non mobilizable vector containing SGI1 fragments, the SGI1 transfer origin (*oriT*) has been located and identified on a 135 bp DNA fragment. The drastic decrease of transfer frequency of a SGI1 lacking this putative *oriT* confirmed this location. In addition, a putative SGI1-encoded integrase and an additional small open reading frame were also involved and probably represented the SGI1 *mob* proteins required for its mobilization. All other transfer functions are provided by the IncA/C helper plasmid.

The identification and characterization of the different molecular components involved in SGI1 mobilization are ongoing and represent an important step for understanding the spread of the SGI1 genomic island among bacterial pathogens.

Références bibliographiques :

1. B. Doublet, D. Boyd, M. R. Mulvey, and A. Cloeckeaert. (2005) The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element. *Molecular Microbiology*. 55:1911-1924.
2. S. Le Hello, R. S. Hendriksen, B. Doublet, I. Fisher, E. M. Nielsen, J. M. Whichard, B. Bouchrif, K. Fashae, S. A. Granier, N. Jourdan-Da-Silva, A. Cloeckeaert, E. J. Threfall, F. J. Angulo, F. M. Aarestrup, J. Wain, and F.-X. Weill. (2011) International spread of an epidemic population of *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 resistant to ciprofloxacin. *Journal of Infectious Diseases*. 204:675-684.
3. G. Douard, K. Praud, A. Cloeckeaert, and **B. Doublet**. (2010) The *Salmonella* genomic island 1 is specifically mobilized *in trans* by the IncA/C multidrug resistance plasmid family. *PLoS ONE*. 5:e15302.

Mots-clés : antimicrobial resistance, horizontal gene transfer, genomic island

P91 - Évolution des populations aériennes de *Botrytis cinerea* : un exemple d'aéromicrobiologie

Christel Leyronas¹, Fabien Halkett², **Magali Duffaud**¹, Philippe Nicot¹

magali.duffaud@avignon.inra.fr

1 : INRA, UR407 Pathologie Végétale, F-84140 Montfavet

2 : INRA, UMR 1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux

Botrytis cinerea est un champignon Ascomycète phytopathogène, à dissémination aérienne, agent de la pourriture grise. Il peut provoquer des dégâts importants sur de nombreuses espèces d'intérêt agronomique. Afin de mieux comprendre et de prévoir le développement des épidémies, nous avons quantifié des populations de *B. cinerea* dans le compartiment aérien pendant 84 journées réparties de septembre 2007 à décembre 2010, sur le site de l'INRA d'Avignon, et étudié leurs caractéristiques génétiques

L'inoculum aérien viable était présent pendant 97% des journées de collecte. Son abondance était corrélée négativement avec la température de l'air et le rayonnement global. Les masses d'air venant du nord et du sud amenaient globalement plus d'inoculum que celles venant de l'ouest. La caractérisation des souches récoltées lors de 29 journées à l'aide de neuf marqueurs microsatellites a montré leur grande diversité (443 haplotypes différents pour 616 souches). Huit groupes génétiques ont été déterminés. La répartition des souches au sein de ces groupes semblait être influencée par la saison ainsi que par l'origine des masses d'air : le groupe 5 était largement majoritaire en été et en automne contrairement à l'hiver et au printemps (test exact Fischer $P=0$), et majoritairement présent quand les masses d'air venaient du nord et du sud mais pas de l'ouest (test exact Fischer $<0,001$).

En complément, les souches seront caractérisées phénotypiquement afin de déterminer s'il existe un lien entre leur agressivité et leur origine et/ou leur groupe génétique.

Mots-clés : aérobiologie, agent phytopathogène, quantification, caractérisation

P92 - Des indicateurs moléculaires permettent-ils d'étudier la dispersion des bioaérosols? Exemple des plateformes de compostage industriel.

Amandine Galès¹, Valérie Bru-Adan¹, Hélène Bacheley², Jean-Jacques Godon¹ et Nathalie Wéry¹

amandine.gales@supagro.inra.fr

¹ UR0050 Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, Avenue des Etangs 11100 Narbonne

² Veolia Environnement Recherche et Innovation, 291 avenue Dreyfous Ducas 78520 Limay

Les bioaérosols peuvent signer les activités humaines et l'anthropisation de l'environnement. Certaines émissions de bioaérosols par les sites industriels pourraient avoir un impact sur la santé des travailleurs et des riverains^[1]. Au travers du compostage, procédé qui peut conduire à l'émission de bioaérosols, nous avons évalué l'utilisation d'indicateurs moléculaires pour tracer les émissions. Deux phylotypes bactériens thermophiles affiliés à *Saccharopolyspora rectivirgula* et aux *Thermoactinomycetaceae* ont été validés comme indicateurs du compostage^{[2],[3]}. Nous avons établi que ces deux indicateurs sont présents dans le compost tout au long du procédé et peuvent donc permettre de caractériser l'ensemble des émissions du site. Ils sont couplés à la mesure des bactéries viables qui valide l'aérosolisation des microorganismes. La dispersion des indicateurs a ensuite été étudiée en déterminant leur concentration dans l'air sur le site et à distance sous les vents dominants. Un référentiel d'air 'non contaminé' a également été établi. Les analyses moléculaires et de viabilité des bioaérosols ont été réalisées par PCR quantitative et cytométrie en phase solide. Les profils de dispersion des indicateurs moléculaires et des bactéries viables obtenus sur des sites en activité ont été comparés. En parallèle, la distribution granulométrique des émissions a été déterminée et des essais sont en cours pour identifier les fractions particulières associées aux indicateurs. L'ensemble des résultats de cette étude permettra de proposer une méthodologie pour déterminer la zone d'influence d'une plateforme de compostage.

Ce projet est réalisé dans le cadre du programme de recherche Environnement-Santé-Travail et bénéficie du soutien financier de l'ADEME.

Références bibliographiques :

- [1] C. E. W. Herr, a Zur Nieden, M. Jankofsky, N. I. Stilianakis, R.-H. Boedeker, and T. F. Eikmann, "Effects of bioaerosol polluted outdoor air on airways of residents: a cross sectional study.," *Occupational and environmental medicine*, vol. 60, no. 5, pp. 336-42, May 2003.
- [2] O. Le Goff, J.-J. Godon, J.-P. Steyer, and N. Wéry, "New specific indicators for qPCR monitoring of airborne microorganisms emitted by composting plants," *Atmospheric Environment*, vol. 45, no. 30, pp. 5342-5350, Sep. 2011.
- [3] O. Le Goff, J.-J. Godon, K. Milferstedt, H. Bacheley, J.-P. Steyer, and N. Wéry, "A new combination of microbial indicators for monitoring composting bioaerosols." (2012, en révision)

Mots-clés : indicateurs moléculaires, bioaérosols, dispersion, compostage

P93 - La vie extracellulaire du peptide ComS déclenchant la compétence chez *Streptococcus thermophilus*

Rozenn Gardan^{1,2}, Colette Besset^{1,2}, Christophe Gitton^{1,2}, Alain Guillot^{1,2} & Véronique Monnet^{1,2}

Rozenn.Gardan@jouy.inra.fr

¹INRA, UMR1319 MICALIS, F-78352 Jouy en Josas, France.

²AgroParistech, UMR MICALIS, F-78352 Jouy en Josas, France.

Chez les streptocoques, ComX est le facteur sigma alternatif qui contrôle la transcription des gènes codant la machinerie de transformation génétique. Chez *S. thermophilus*, la transcription de *comX* est contrôlée par un complexe constitué d'un régulateur transcriptionnel de la famille Rgg, ComR, et d'un peptide de signallement, ComS qui contrôle l'activité de ComR.

Durant les premières étapes de sa vie, ComS est maturé, sécrété et réimporté dans la bactérie par le transporteur d'oligopeptides Ami. Notre objectif était de caractériser précisément ces différentes étapes et les protéines impliquées afin de mieux comprendre le rôle physiologique de ce mécanisme de communication bactérienne.

Nous avons identifié la forme mature de ComS et avons montré que la protéase membranaire Eep est impliquée dans la maturation de ComS. Nous avons montré que ComS est sécrété mais pas libéré dans le surnageant de culture.

La présence de peptides nutritionnels, à haute concentration dans le milieu, inhibe le déclenchement de la compétence, probablement en entrant en compétition avec ComS pour l'internalisation via Ami. En lait, la concentration de peptides nutritionnels ne semble pas suffisante pour entrer en compétition avec ComS car les bactéries sont compétentes dans ce milieu.

La cinétique d'expression de *comX* et d'un gène de compétence tardif, *dprA*, dans des cultures inoculées à des densités initiales différentes montre que le mode de fonctionnement de ComS/ComR relève plus d'un mécanisme de type « timing device » plutôt que de « quorum sensing » *sensu stricto*.

En conclusion, le complexe ComS/ComR permet un contrôle fin du déclenchement de la compétence, à toutes les étapes du mécanisme.

Mots-clés : *Streptococcus thermophilus*, communication cellulaire, compétence, transformation

P94 - Rgg-associated signaling peptides mediate cross-talk in streptococci

Betty Fleuchot^{1, 2}, Pierre Nicolas³, Alain Guillot^{1, 2}, Véronique Monnet^{1, 2}, **Rozenn Gardan**^{1, 2}

Rozenn.Gardan@jouy.inra.fr

¹INRA, UMR1319 MICALIS, F-78352 Jouy en Josas, France.

²AgroParistech, UMR MICALIS, F-78352 Jouy en Josas, France.

³INRA, UR1077, Mathématique Informatique et Génome, F-78352 Jouy-en-Josas, France.

Rgg-like proteins have been primarily identified and studied in streptococci, where they are transcriptional regulators controlling the expression of genes encoding various functions. Recently, we showed that some of these regulators, in association with a short hydrophobic peptide (SHP) playing the role of pheromone, are involved in a new quorum-sensing mechanism. The latter has been deciphered in detail in *Streptococcus thermophilus*.

The construction of a phylogenetic tree of all Rgg proteins found in Gram-positive bacteria, highlighted 68 *shp/rgg* systems in streptococci that were classified into three groups using the following criteria: the amino acid sequence of the SHP and the genetic organization of both *shp* and *rgg* genes. Our findings coupled with amino acid sequence similarity between the Rgg and SHP raised the question of crosstalk among streptococci.

Using a genetic approach, we have studied and expanded the functionality of the SHP/Rgg systems to three other *shp/rgg* loci among which, two of pathogenic streptococci (*S. agalactiae* and *S. mutans*). We have identified the amino acid sequences of the mature SHPs secreted by the bacteria in the extracellular medium. Finally, we have used six different synthetic SHPs to study the cross-talk between different SHP/Rgg systems.

Taken together, all these results led us to conclude that: 1. the SHP/Rgg quorum sensing mechanism, firstly identified and studied in *S. thermophilus*, is widespread in streptococci; 2. a few SHPs of one species can control the activity of Rgg regulators of other species, making possible communication between streptococcal species.

Mots-clés : streptococci, Rgg

P95 - FILTRES: un logiciel convivial pour la microbiologie prévisionnelle

Jean-Pierre Gauchi¹, J.P. Vila², C. Bidot¹, E. Atlijani¹, A. Bouvier¹, L. Coroller³, J.-C. Augustin⁴ & P. Del Moral⁵

jean-pierre.gauchi@jouy.inra.fr

(1) INRA, département Mathématiques et Informatique Appliquées/ Unité MIA (UR3141), Jouy-en-Josas, France.

(2) INRA, département Mathématiques et Informatique Appliquées/ Unité MISTEA, Montpellier, France.

(3) Université de Bretagne Occidentale, LUBEM, Quimper, France.

(4) Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Laboratoire MASQ, Maisons-Alfort, France.

(5) INRIA, Equipe ALEA, Bordeaux, France.

L'objet de la microbiologie prévisionnelle est la modélisation de la croissance et la décroissance de populations bactériennes, ainsi que la modélisation des paramètres eux-mêmes de ces modèles en fonction des paramètres environnementaux (température, pH, aw, ...). De tels modèles peuvent aider, par exemple, et si leurs paramètres sont estimés avec précision, à faire des évaluations du risque de contamination par des espèces pathogènes (*Bacillus*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Listeria*, etc) en microbiologie alimentaire.

La mise en défaut des techniques statistiques classiques pour calculer et planifier ces modèles (dynamiques) et ces estimations nous a conduits à considérer des approches numériques innovantes issues de la *théorie du Filtrage Particulaire* (filtres à convolution). Le logiciel que nous proposons est basé sur ces approches. A ce jour, le logiciel FILTRES, rendu convivial par interface graphique en langage Matlab, permet: a) la prise en compte rigoureuse des erreurs de dilution, de pesée et de comptage lors de l'estimation des paramètres des modèles, b) la comparaison de deux modèles dynamiques à partir d'un jeu de données de comptage sur boîte de Petri, c) la simulation de jeux de données, d) la simulation d'une stratégie optimale d'échantillonnage temporel des données. Une version sera téléchargeable gratuitement à partir d'un site Web dès l'automne. A moyen terme, d'autres fonctionnalités seront disponibles, à savoir la prise en compte simultanée de modèles décrivant plusieurs espèces, et le contrôle (par exemple, au moyen de la température) de la décroissance bactérienne. Lors de l'exposé, non technique, des copies d'écran seront montrées.

Références bibliographiques :

Gauchi, J.-P., Vila, J.-P., 2012. Nonparametric particle filtering approaches for identification and inference in nonlinear state-space dynamic systems. *Statistics and Computing*, 2012, DOI: 10.1007/s11222-012-9327-7.

Gauchi, J.-P., Vila, J.-P., Bidot, C., Augustin, J.-C., Coroller, L., Del Moral, P., 2012. Une approche particulière de l'identification et de l'inférence statistique de modèle en microbiologie prévisionnelle. 12th Journées Européennes "Agro-Industrie et méthodes statistiques", 29 février - 2 mars 2012, Paris, France.

Gauchi, J.-P., Vila, J.-P., Bidot, C., Atlijani, E., Coroller, L., Augustin, J.-C., Del Moral, P., 2011. FILTRES: A New Software for Identification and Optimal Sampling of Experiments for Complex Microbiological Dynamic Systems by Nonlinear Filtering. 7th International Conference "Predictive Modelling in Foods", Septembre 2011, Dublin, Ireland.

Gauchi, J.-P., Bidot, C., Augustin, J.-C., Vila, J.-P., 2009. Identification of complex microbiological dynamic systems by nonlinear filtering. 6th International Conference "Predictive Modelling in Foods", Septembre 2009, Washington, USA.

Bidot, C., Gauchi, J.-P., Vila, J.-P., 2009. Identification de systèmes dynamiques microbiologiques complexes par filtrage non linéaire. Actes des 41^{èmes} Journées de Statistique (SFdS), Bordeaux, 25 mai au 29 mai 2009.

Bidot, C., Gauchi, J.-P., Vila, J.-P., 2009. Programmation MATLAB du filtrage non linéaire par convolution de particules pour l'identification et l'estimation d'un système dynamique microbiologique, Version 2009_1. *Rapport technique de l'Unité MIA de Jouy-en-Josas*, n°2009-3, 45 pages.

Mots-clés : microbiologie prévisionnelle, croissance bactérienne, statistique, modélisation, filtrage

P96 - Inactivation atmosphérique des virus présents dans les eaux usées utilisées en irrigation : suivi en enceinte climatique dédiée

Guillaume Girardin^{1,2}, F. Bon³, D. Courault^{1,2}, P. Renault^{1,2}, H. Wortham⁴,
L. Capowiez^{1,2}, F. Tison^{1,2}

**Poster
Doctorant**

guillaume.girardin@avignon.inra.fr

¹ INRA, UMR 1114 EMMAH, F-84914 Avignon, France

² Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, UMR 1114 EMMAH, F-84000 Avignon, France

³ UMR1347 Agroécologie, pôle MERS, Faculté de Médecine, 7, Bd Jeanne d'Arc 21079 Dijon, France

⁴ UMR 6264, LCE, Univ Aix-Marseille, Campus Saint Charles, 3 Place Victor Hugo, 13 331 Marseille

La réutilisation des eaux usées en irrigation agricole est amenée à se développer, en réponse à l'accroissement des demandes en eaux (changement climatique, accroissement des populations et diversification des besoins), à la fragilisation en quantité ou en qualité de certaines ressources conventionnelles, et à la volonté de ne pas polluer d'avantage ces ressources par les rejets d'eaux usées même traitées dans les rivières, les aquifères et la mer. Néanmoins, la réutilisation des eaux usées pose des problèmes environnementaux et sanitaires : des pathogènes de l'homme tels que des bactéries, des helminthes, des protozoaires et des virus y sont détectés, ces derniers incluant entre autres les principaux responsables des gastroentérites. Utilisées en agriculture, il existe un risque important d'aérosolisation lors d'irrigation par aspersion d'eaux usées ou ultérieurement lors d'épisodes venteux. À notre connaissance, peu d'études portent sur la résistance des virus entériques aux conditions environnementales de température, d'humidité de l'air, de rayonnement solaire et de pouvoir oxydatif lié à la (photo)chimie de l'atmosphère (radicaux libres, ozone ...).

Aussi les objectifs de cette étude sont la mise au point d'un dispositif et d'un protocole permettant l'étude de l'inactivation des virus entériques dans des conditions environnementales contrôlées. Les virus entériques retenus sont les Norovirus (responsable de la plupart des gastroentérites), le virus de l'hépatite A et le Mengovirus murin (virus modèle inoffensif). Un dispositif spécifique a été construit au laboratoire EMMAH s'inspirant de ceux utilisés pour l'étude de la chimie atmosphérique (LCE Marseille). Il comprend une enceinte hermétique où les virus sont déposés, dans laquelle sont contrôlées les conditions atmosphériques de température, d'humidité, de teneur en ozone et de rayonnement. Après avoir été exposés à à différentes conditions, les virus sont extraits et dénombrés par 2 méthodes différentes et complémentaires : un dénombrement total par RT-qPCR pour avoir accès à la fraction de virus récupérée de leur support, et un dénombrement des virus infectieux par mise en culture cellulaire. Ces données doivent déboucher sur un modèle d'inactivation atmosphérique des virus

Cette étude est soutenue dans le cadre d'une thèse par Suez environnement et la région PACA.

Mots-clés : virus entérique, aérosol, inactivation, Mengovirus murin, virus de l'hépatite A

P97 - Le profilage métabolique : potentialités d'une nouvelle approche analytique globale pour la détection de la présence de *Campylobacter* dans la viande de porc

Sandrine Guillou^{1,3}, Sami Ellouze^{2,3}, Frédérique Courant^{2,3}, Albert Rossero^{1,3}, Gaud Dervilly-Pinel^{2,3},
Bruno Le Bizec^{2,3}, Catherine Magras^{1,3}

sandrine.guillou@oniris-nantes.fr

¹ INRA, UMR1014 Secalim, Nantes, France

² Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Nantes, France

³ LUNAM Université, Oniris, Nantes, France

Campylobacter thermotolérant, premier danger bactérien zoonotique d'origine alimentaire en fréquence de cas humains dans le monde, est très présent sur les viandes et produits carnés. Incapable de s'y multiplier, cette bactérie y survit très longtemps et une centaine d'entre elles suffit à déclencher une campylobactériose digestive. Une détection sensible et spécifique de sa présence, directement dans les matrices carnées, en s'affranchissant de l'étape culturale, permettrait donc d'améliorer l'évaluation du risque lié à sa présence, de décrire son évolution physiologique *in situ*, et comprendre ses adaptations à la matrice carnée.

Dans ce contexte, une approche analytique innovante basée sur les technologies émergentes globales de type métabolomique, a été expérimentée pour la détection d'une souche sauvage de *Campylobacter coli* dans de la viande de porc intentionnellement contaminée, avec pour objectif la mise en évidence de biomarqueurs de contamination. Les biomarqueurs candidats correspondent à des métabolites de *Campylobacter* ou résultent de l'expression de modifications biochimiques de la viande induites par l'activité bactérienne. La réalisation de l'étude métabolomique a nécessité un important développement méthodologique et l'élaboration d'un protocole de préparation des échantillons adapté à la viande. Les prises d'empreintes métabolomiques ont été réalisées sur la fraction polaire par chromatographie liquide haute résolution couplée à la spectrométrie de masse (LC-HRMS). Les conditions d'analyse ont été optimisées afin de générer des empreintes métabolomiques reproductibles et informatives. Les premiers résultats se sont montrés encourageants. Toutefois, une variabilité assez importante a été observée entre les différentes matrices carnées et la signature de *C. Coli* est apparue relativement discrète.

Mots-clés : *Campylobacter*, métabolomique, risque, détection, survie

P98 - Étude *in silico*, *in vitro* et *in vivo* de la virulence de souches de *Mycobacterium bovis* à l'origine de foyers de tuberculose bovine.

Amandine Hauer¹, Thierry Cochard², Krystel DeCruz³, Nathalie Winter²,

Maria Laura Boschioli³ & Franck Biet²

amandinehauer@anses.fr

Poster
Doctorant

¹ ANSES, Unité Zoonoses Bactériennes (UZB), Laboratoire de Santé Animale, Maisons Alfort, France. / INRA, UMR1282, Infectiologie et Santé Publique (ISP-311), F-37380 Nouzilly, France.

² INRA, UMR1282, Infectiologie et Santé Publique (ISP-311), F-37380 Nouzilly, France.

³ ANSES, Unité Zoonoses Bactériennes (UZB), Laboratoire de Santé Animale, Maisons Alfort, France.

Mycobacterium bovis est une bactérie zoonotique du complexe de *M. tuberculosis* (MTBC) [2][6], endémique dans de nombreux pays, principal responsable de la tuberculose chez les bovins (bTB) [4] [8]. A l'inverse, *M. tuberculosis* est à l'origine de tuberculose humaine mais rarement bovine.

Un programme national d'assainissement puis d'éradication (fin des années 50) a permis à la France d'être reconnue officiellement indemne de bTB en 2000 (prévalence cheptel annuelle < 0,1%). Cependant depuis 5 ans, on observe une recrudescence de la bTB qui met en péril le statut de la France : la perte du statut indemne mènerait à d'importantes pertes économiques pour les éleveurs et l'industrie agroalimentaire, notamment par l'impossibilité des échanges commerciaux.

Pour mieux comprendre la dynamique de la maladie [9], et afin de réaliser un suivi épidémiologique plus précis des foyers et des liens entre foyers dans l'espace et dans le temps, nous avons réalisé le génotypage de la souchothèque de *M. bovis* du Laboratoire National de Référence-Anses (2500 isolats, 1978-2011) par deux méthodes : le spoligotypage et le MLVA. Ce couplage permet une identification précise de souches pour comprendre les schémas d'évolution et de dissémination de la bactérie.

Dans cette étude nous avons sélectionné les types de souches françaises de *M. bovis* les plus représentatives dans l'histoire de la bTB (souches anciennes disparues, endémiques depuis plusieurs années, et d'émergence locale). Nous réaliserons une caractérisation de SNPs [3] sur de putatifs gènes de virulence qui pourraient être à l'origine de différents profils de pathogénicité-transmissibilité [5][7][1]. Ces données devraient nous permettre de comprendre si l'émergence actuelle de la maladie résulte d'une augmentation de la virulence ou de facteurs humains (techniques/ type d'élevage).

Références bibliographiques :

[1] Bigi F., A. Gioffré, L. Klepp, M.P. Santangelo, C.A. Velicovsky, G.H. Giambartolomei, C.A. Fossati, M.I. Romano, T. Mendum, J.J. McFadden, A. Cataldi. (2005) Mutation in the P36 gene of *Mycobacterium bovis* provokes attenuation of the bacillus in a mouse model. *Tuberculosis*. 85: 221-226.

[2] Dos Vultos T., O. Mestre, J. Rauzier, M. Golec, N. Rastogy, V. Rasolofo, T. Tonjum, C. Sola, I. Matic, B. Gicquel. (2008) Evolution and diversity of clonal bacteria: the paradigm of *Mycobacterium tuberculosis*. *Plosone*. Issue 2, e1538.

[3] Garcia Pelayo C.M., S. Uplekar, A. Kkeniry, P. Mendoza Lopez, T. Garnier, J. Nunez Garcia, L. Boschioli, X. Zhou, J. Parkhill, N. Smith, R.G. Hewinson, S.T. Cole, S.V. Gordon. (2009) A comprehensive survey of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) across *Mycobacterium bovis* strains and *M. bovis* BCG Vaccine strains refines the genealogy and defines a minimal set of SNPs that separate virulent *M. bovis* strains and *M. bovis* BCG strains. *Infection and Immunity*. Vol. 77, N°5: 2230-2238.

[4] Haddad N., A. Ostyn, C. Karoui, M. Masselot, M.F. Thorel, S.L. Hughes, J. Inwald, R.G. Hewinson, B. Durand. (2001) Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* strains isolated in France from 1979 to 2000. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 39, N°10: 3623-3632

[5] Mestre O., T. Lao, T. Dos Vultos, K. Kremer, A. Murray, A. Namouchi, C. Jackson, J. Rauzier, P. Bifani, R. Warren, V. Rasolofo, J. Mei, Q. Gao, B. Gicquel. (2011) Phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains constructed from polymorphisms in genes involved in DNA replication, recombination and repair. *Plosone*. Issue 1, e16020.

[6] Mostowy S., J. Inwald, S. Gordon, C. Martin, R. Warren, K. Kremer, D. Cousins, M.A. Behr. (2005) Revisiting the evolution of *Mycobacterium bovis*. *Journal of Bacteriology*. Vol. 187, N°18: 6386-6895.

[7] Parwati I., R. Van Crevel, D. Van Soolingen. (2010) Possible underlying mechanisms for successful emergence of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains. *The Lancet*. Vol.10: 103-111.

[8] Phillips C.J.C., Foster C.R.W., P.A. Morris, R. Teverson. (2003) The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Research in Veterinary Sciences*. 74: 1-15.

[9] Smith N.H.. (2012) The global distribution and phylogeography of *Mycobacterium bovis* clonal complexes. *Infection, Genetics and Evolution*. 12: 857-865.

Mots-clés : tuberculose bovine, virulence, génotypage

P99 - Étude de la résistance au stress acide de *Bacillus cereus* en conditions d'oxydo-réduction contrôlées

Julien Le Lay¹, Michel Jobin¹, Philippe Schmitt¹

Julien.le-lay@paca.inra.fr

Poster
Doctorant

¹ INRA, Université d'Avignon, UMR408, Site Agroparc Domaine St Paul, Montfavet 84914 cedex

Bacillus cereus est une bactérie sporulée, aéro-anaérobie facultative, capable de survivre dans des conditions de bas potentiels d'oxydo-réduction (Eh) ou de pH acides (pH<5.0).

Nos recherches se focalisent sur les mécanismes de résistance au stress acide de *Bacillus cereus* sous différents niveaux de Eh (Perméabilité membranaire...) ainsi qu'au rôle des groupements thiols dans la réduction du milieu et la résistance à l'acidité.

Les premiers résultats obtenus pour la résistance au stress acide montrent une augmentation importante de la survie des cellules de *Bacillus cereus* cultivées sous azote (Eh=-50mv) à pH5.5 vis-à-vis de celles cultivées à pH7, signe d'une adaptation à l'acide.

Pour l'étude des thiols, Les résultats sous diazote montrent que le pouvoir réducteur de *cereus* est maximal dès la première heure après inoculation avant de se stabiliser et d'atteindre en fin de croissance à un Eh7 final de -50mv. La concentration en groupement thiols a été évaluée et est cohérente avec ce premier résultat, suggérant un rôle des thiols dans la réduction du milieu de *cereus*. Du NEM, un inhibiteur des thiols, a été utilisé sur des cellules en fin de croissance. Une remontée rapide du Eh7 est observée à un niveau proche du niveau initial de début de croissance, indiquant un rôle des thiols dans la réduction du milieu de *cereus*.

Références bibliographiques :

Senouci-Rezkallah , K., Schmitt, P., Jobin, M., (2011) Amino acids improve acid tolerance and internal pH maintenance in *Bacillus cereus* ATCC14579 strain. *Food microbiology* 28, 364-372.

Zigha, A., Rosenfeld, E., Schmitt, P., Duport, C., (2007) The Redox Regulator Fnr Is Required for Fermentative Growth and Enterotoxin Synthesis in *Bacillus cereus* F4430/73. *Journal of bacteriology* 189, 2813-2824.

Michelon, D., Abraham, S., Ebel, B., De Coninck, J., Husson, F., Feron, G., Gervais, P., Cachon, R.(2010) Contribution of exofacial thiol groups in the reducing activity of *Lactococcus lactis* . *The FEBS journal* 277 2282-2290.

Mots-clés : *Bacillus cereus*, stress acide, thiols

P100 - Prévalence et diversité des éléments intégratifs conjugatifs (ICE) chez les streptocoques

Gérard Guedon^{1,2}, Marie-Dominique Devignes³, Florence Charron-Bourgoin^{1,2}, Virginie Libante^{1,2}, Nicolas Pons⁴, Christine Delorme⁴, **Nathalie Leblond**^{1,2} et Sophie Payot^{1,2}

bourget@nancy.inra.fr

¹ INRA, UMR1128 Génétique et Microbiologie, Vandœuvre-lès-Nancy, France ;

² Université de Lorraine, UMR1128 Génétique et Microbiologie, Vandœuvre-lès-Nancy ;

³ INRIA, LORIA, Vandœuvre-lès-Nancy

⁴ INRA, UMR1319 MICALIS, Jouy-en-Josas.

L'acquisition d'îlots génomiques joue un rôle clé dans l'évolution bactérienne. Certains îlots peuvent s'exciser du chromosome, se transférer par conjugaison puis s'intégrer, de façon autonome (éléments intégratifs conjugatifs ou ICE) ou non (éléments mobilisables ou IME). L'objectif de cette étude est d'évaluer la prévalence et la diversité de ces éléments génétiques mobiles chez *S. salivarius*, streptocoque présent dans les écosystèmes buccal et digestif humains.

Une base de données regroupant des protéines caractéristiques d'ICE et IME (intégrases, relaxases, protéines de couplage) de Firmicutes a été créée et enrichie grâce à une recherche d'homologues dans 72 génomes complètement séquencés de streptocoques. Ceci a permis de détecter la présence de 1,9 élément par génome, allant de 4,4 à 0,6 en fonction des espèces. L'analyse des 6 génomes complètement ou partiellement séquencés de *S. salivarius* a ainsi révélé la présence de 12 IME et 1 ICE de la famille Tn916. Cette base de données a également été utilisée pour analyser des données de séquençage à haut débit (SOLiD) sur des mélanges d'ADN de *S. salivarius*. Trois familles d'ICE (Tn916, Tn5252 et ICES_{t3}) et 4 d'IME ont ainsi été décelées. La recherche par PCR de ces familles d'ICE au sein de notre collection de souches commensales et cliniques de *S. salivarius*, révèle actuellement, dans le génome de 145 souches testées, la présence de 45 îlots génomiques apparentés à ICES_{t3} dont au moins 15 ICE. Ce travail a mis en évidence une grande diversité et une prévalence élevée d'ICE et IME chez les streptocoques.

Références bibliographiques :

- Bellanger X, Roberts AP, Morel C, Choulet F, Pavlovic G, et al. 2009. Conjugative transfer of the integrative conjugative elements ICES_{t1} and ICES_{t3} from *Streptococcus thermophilus*. *J Bacteriol* 191: 2764-75
- Brochet M, Couve E, Glaser P, Guedon G, Payot S. 2008. Integrative conjugative elements and related elements are major contributors to the genome diversity of *Streptococcus agalactiae*. *J Bacteriol* 190: 6913-7
- Burrus V, Pavlovic G, Decaris B, Guedon G. 2002. Conjugative transposons: the tip of the iceberg. *Mol Microbiol* 46: 601-10
- Burrus V, Waldor MK. 2004. Shaping bacterial genomes with integrative and conjugative elements. *Res Microbiol* 155: 376-86
- Chen I, Christie PJ, Dubnau D. 2005. The ins and outs of DNA transfer in bacteria. *Science* 310: 1456-60
- Churchward G. 2002. Conjugative transposons and related mobile elements. In *Mobile DNA II*, ed. N Craig, R Craigie, M Gellert, A Lambowitz, pp. 177-91. Washington DC: ASM Press
- Pavlovic G, Burrus V, Gintz B, Decaris B, Guédon G. 2004. Evolution of genomic islands by deletion and tandem accretion by site-specific recombination: ICES_{t1}-related elements from *Streptococcus thermophilus*. *Microbiology* 150: 759-74
- Thomas CM, Nielsen KM. 2005. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nat Rev Microbiol* 3: 711-21

Mots-clés : streptocoques, *Streptococcus salivarius*, éléments génétiques mobiles, ICE, IME, évolution, génome

P101 - Diversity and adaptation of flor yeast : new data for an old question

Jean-Luc Legras^{1,2,3}, Frederic Bigey^{1,2,3}, Anna Lisa Coi⁴, Virginie Galeote¹, Claudine Charpentier⁵,
Sylvie Dequin^{1,2,3}

legrasil@supagro.inra.fr

¹ INRA, UMR1083 Sciences pour l'œnologie, F-34060 Montpellier, France

² Supagro, UMR1083 Sciences pour l'œnologie, F-34060 Montpellier, France

³ Université Montpellier I, UMR1083 Sciences pour l'œnologie, F-34060 Montpellier, France

⁴ Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e di Biotecnologie AgroAlimentari, Italy

⁵ Université de Bourgogne I, UMR1083 Sciences pour l'œnologie, F-21000 Dijon, France

Saccharomyces cerevisiae, our favorite model organism has been used for millennia for the production of all sort of fermented beverages as well as for bread rising. In contrast with these fermentation lifestyles, during flor wine aging *Saccharomyces cerevisiae* strains are growing aerobically at the surface of wine as a biofilm. Because this growth occurs on a substrate in which a significant part of the nutriment has been depleted during alcoholic fermentation, and in which glucose has been replaced by ethanol, flor yeast must have overcome the different stress imposed by this niche. We have found that isolates obtained from veils from different countries (Hungary, Italy, France and Spain) belong to the same family, related to wine yeast. We could observe from the different strains, a high polymorphism of the length of the *FLO11* gene as well as a variable ability to sporulate that may be the result of this man related lifestyle (Magwene et al. 2011). A Comparative Genome Hybridization on array performed on 6 flor stains of different origins did not detect major aneuploidies but few genes that could explain the specific features of this adaptation. In order to unravel how the selective forces from wine fermentation and flor wine aging have differentially shaped the genomes of wine and flor strains we are undertaking the sequencing of the genome of 16 strains : 8 strains isolated from flor veils in different countries and 8 industrial wine yeast.

Références bibliographiques :

1. Magwene PM et al 2011 PNAS108(5):1987–92.

Mots-clés : *Saccharomyces cerevisiae*, population structure, flor aging, aCGH, genome sequence

P102 - CIRM-Filamentous Fungi collection is a unique reservoir of functional diversity toward biotechnological applications

Laurence Lesage-Meessen^{1,2,3}, Jean-Guy Berrin^{1,2}, Marie Couturier^{1,2}, Isabelle Gimbert^{2,1}, Sacha Grisel^{1,2}, Mireille Haon^{1,2,3}, Anthony Levasseur^{1,2}, Anne Lomascolo^{2,1}, David Navarro^{1,2,3}, François Piumi^{1,2}, Jean-Claude Sigoillot^{2,1}, Sabine Taussac^{1,2,3}, Eva Uzan^{2,1}, Anne Favel^{2,1}

laurence.lesage-meessen@univ-amu.fr

¹INRA, UMR1163 BCF, F-13288 Marseille, France

²Aix Marseille Université, UMR1163 BCF, F-13288 Marseille, France

³CIRM-CF, UMR1163 BCF, F-13288 Marseille, France

The CIRM-CF collection located in Marseille is dedicated to the preservation of filamentous fungi of agro-industrial interest. This collection is a unique tool to explore fungal biodiversity with applications in various fields of biotechnology. The research unit UMR1163 Biotechnology of Filamentous Fungi that hosts CIRM-CF collection develops research strategies to assess the enzymatic potential of natural fungal diversity for the degradation of lignocellulosic materials.

Natural fungal diversity from temperate and tropical forests was explored for biomass deconstruction. Secretomes of fungal isolates, tested using the robotic platform developed in our unit⁽¹⁾, improved wheat straw saccharification compared to commercial *Trichoderma reesei* cocktails⁽²⁾. Analysis of the best-performing secretomes (e.g., *Fusarium verticillioides*, *Trametes gibbosa*, *Ustilago maydis*) using proteomics and activity profiling allowed the identification of a number of lignocellulose-acting enzymes potentially useful to improve bioconversion processes^(2,3,4).

Among wood-decaying fungi, a special attention was given to the genus *Pycnoporus* (Basidiomycota, Polyporales, Polyporaceae) due to its ability to produce as predominant lignolytic enzymes, laccases that are multi-copper oxidoreductases capable to degrade environmental pollutants (industrial dyes, polycyclic aromatic hydrocarbons or pesticides). At the species level, a phylogenetic analysis inferred from the genes encoding laccases (i.e. *lac3-1*) highlighted an enzyme functional diversity associated with biogeographical origin of the strains⁽⁵⁾. In addition, original strains of *Pycnoporus sanguineus* and *P. coccineus*, isolated from fresh specimens collected *in situ* in tropical and sub-tropical forests, were shown high producers of high redox potential laccases, whose biochemical and biotechnological properties were characterized⁽⁶⁾. The ability of these purified enzymes to synthesize natural active oligomers from rutin, one of the best-known naturally occurring flavonoid glycosides with antioxidant, anti-inflammatory and anti-ageing activities, was revealed⁽⁷⁾.

Références bibliographiques :

- ⁽¹⁾ Navarro et al. (2010) Microbial Cell Factories **10**:106-
- ⁽²⁾ Berrin et al (2012) Applied and Environmental Microbiology (in press)
- ⁽³⁾ Ravalason et al (2012) Bioresource Technology **114** :589-
- ⁽⁴⁾ Couturier et al (2012) BMC Genomics **13**:57-
- ⁽⁵⁾ Lesage-Meessen et al. (2011) FEMS Microbiology Letters **325**:37-
- ⁽⁶⁾ Uzan et al. (2010) Journal of Applied Microbiology **108**:2199-
- ⁽⁷⁾ Uzan et al; (2011) Applied Microbiology and Biotechnology **90**:97-

Mots-clés : filamentous fungi, diversity, enzyme, biotechnology, CIRM-CF

P103 - Quantification of viable *Photobacterium phosphoreum* in salmon (*Salmo salar*) steaks by real-time PCR

Sabrina Macé^{1,2,3,*}, Kelthoum Mamlouk^{1,3}, Stoyka Chipchakova^{1,3},
Jean-Jacques Joffraud², Paw Dalgaard⁴, Marie-France Pilet^{1,3}
and Xavier Dousset^{1,3}

Poster
Doctorant

sabrina.mace@oniris-nantes.fr

- 1 LUNAM Université, Oniris, UMR1014 Secalim, BP82225, Nantes, F-44307, France,
- 2 Ifremer, Lab BRM STBM, F-44311 Nantes 3, France.
- 3 INRA, Nantes, F-44307, France.
- 4 National Food Institute, Technical University of Denmark, DK-2800, Kgs. Lyngby, Denmark.

Modified atmosphere packed (MAP) fresh fish is increasingly popular in Europe and sold by supermarkets as a chilled product. MAP reduces aerobic Gram negative bacteria growth and extends shelf-life. However this packaging allows CO₂ resistant bacteria to grow including *Photobacterium phosphoreum* which is the specific spoilage organisms (SSO) of several chilled marine fishes. No traditional plate counting media to enumerate *P. phosphoreum* are available and this is problematic in relation to control of this important spoiler. Therefore, we developed a specific real-time PCR quantification method combined with a propidium monoazide sample treatment step to quantify *P. phosphoreum* in MAP salmon. Primers were designed to amplify a 360 bp fragment of the gyrase subunit B gene of *P. phosphoreum*. Their specificity was demonstrated by using 76 DNA strains of 50 bacterial species. Using these primers for real-time PCR in pure culture, a good correlation (r^2 of 0.99) was obtained with enumeration on marine agar (MA). Quantification was linear over 6-log units as confirmed by using inoculated salmon samples. On naturally contaminated salmon, it performed successfully with a minimum threshold of 3 log (CFU/g) for accurate quantification of *P. phosphoreum*. This study presents a rapid tool for producing reliable quantitative data on *P. phosphoreum* in salmon. We believe this new culture-independent method will be valuable for future fish inspection and studies of the ecology of this SSO. To further evaluate this method, it will be compared with an existing conductance based incubation method for quantitative determination of *P. phosphoreum* in fresh fish.

Mots-clés : *Photobacterium phosphoreum*, atlantic salmon, spoilage, quantification, real-time PCR

P104 - Rôle des transferts horizontaux dans l'adaptation des levures œnologiques à leur environnement

Souhir Marsit¹, Virginie Galeote¹ et Sylvie Dequin¹

Souhir.marsit@supagro.inra.fr

Poster
Doctorant

¹ UMR 1083 Sciences Pour l'Œnologie, INRA, 2 Place Viala, F-34060 Montpellier, France

Les levures œnologiques ont été sélectionnées depuis des millénaires par l'environnement œnologique et plus récemment par l'homme pour divers traits technologiques. Elles présentent des propriétés uniques au sein de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. Cependant les mécanismes moléculaires à l'origine de ces particularités restent largement méconnus. Le séquençage du génome complet de la levure commerciale EC1118 a révélé la présence de 3 larges régions génomique contenant 34 gènes au total [1] acquis par transfert horizontal à partir de levures plus éloignées. Ces nouveaux gènes sont retrouvés chez de nombreuses souches œnologiques et codent potentiellement pour des fonctions métaboliques importantes lors de la vinification (métabolisme du sucre et de l'azote), suggérant un rôle dans l'adaptation à l'environnement œnologique [2].

La fonction de trois de ces nouveaux gènes a pu être élucidée : le gène *FSY1* code pour un transporteur de haute affinité du fructose/H⁺ [2] et deux gènes dupliqués en tandem codent pour des transporteurs d'oligopeptides désignés Fot1-2 [3]. L'acquisition de ces nouvelles fonctions chez EC1118 pourrait conférer un avantage significatif aux levures *S. cerevisiae* durant le processus de fermentation du vin.

Afin d'avoir une vision plus complète du rôle de ces nouvelles régions dans l'adaptation des souches, nous avons entrepris une étude plus systématique de la fonction des nouveaux gènes, basée sur (i) des études d'expression (ii) et l'analyse phénotypique de mutants de délétion de chaque région dans différentes conditions physiologiques. Une analyse de la diversité et la distribution de ces régions au sein des levures *S. cerevisiae* a également été réalisée.

Références bibliographiques :

1. Novo M, et al. (2009). Proc Natl Acad Sci U S A 106: 16333-16338.
2. Galeote V, et al. (2010). Microbiology 156: 3754-3761.
3. Damon C, et al. (2011). The ISME Journal 9: 67.

Mots-clés : levures œnologiques, transfert de gènes, génome, adaptation

P105 - Knr4/Smi1 family: Conserved fungal chaperones of puzzling origin.

Hélène Martin-Yken¹, Mathias L. Richard² & Jean-Marie François.¹

helene.martin@insa-toulouse.fr

¹Laboratory of Systems Engineering and Bioprocesses, LISBP, INSA, University of Toulouse, France

²INRA, AgroParisTech, UMR1319 Micalis, Virulence et Infection Fongique, Thiverval-Grignon, France

We report here on the functional conservation of a family of fungal proteins, essentially involved in morphogenesis, cell wall synthesis and transcriptional control.

We show that homologs of Knr4/Smi1 from various yeast species functionally complement phenotypes of the *Saccharomyces cerevisiae* *knr4* null mutant (ex: genes from *Candida albicans* and *Eremotcium gossypii*.) The products of other homolog genes from more distant fungal species may not complement ScKnr4 function, but still display strikingly similar roles related to cell wall synthesis and cellular localization during growth (ex: *Neurospora crassa* GS1).

The human pathogen *C. albicans* possesses 2 orthologs to ScKnr4/Smi1: Smi1 and Smi1B. Separate deletions of the two coding genes have been conducted and show different phenotypes: *smi1*^{-/-} shows a clear hypersensitivity to CFW or SDS treatment whereas *smi1B*^{-/-} is not affected. In addition, *C. albicans* *SMI1* gene is induced in hyphal cells and involved in biofilm matrix production and development of the associated drug resistance phenotype (ex: to flukonazole; Nett, et al., 2011).

Sequence and structure similarity studies indicate that these genes have numerous bacterial homologs, including a recently described family of contact dependant inhibitory (CDI) toxin system. These genes may have reached the eukaryote kingdom through viruses (Zhang, et al.2011). Our results indicate that the *KNR4/SMI1* gene family code for a group of chaperones, unique in the fungal kingdom, whose particular structural characteristics provide the ability to interact with several partners and to ensure a specific role in transcriptional control and cellular morphogenesis.

The 3D structure of ScKnr4/Smi1 is currently under investigation in our lab, as well as the pathway and partners involved in its cellular localisation.

Références bibliographiques :

Nett, J. E., Sanchez, H., Cain, M. T., Ross, K. M. and Andes, D. R. *Eukaryot Cell* **10**, 1660-9.

Zhang, D., Iyer, L. M. and Aravind, L. *Nucleic Acids Res* **39**, 4532-52.

Mots-clés : morphogenesis, functional conservation, drug resistance, biofilm formation

P106 - Stochastic gene expression, phenotypic variability and adaptation of budding yeast to environmental stresses

Hélène Martin-Yken¹, Marlène Vuillemin¹, Frédéric Bigey², Sylvie Dequin², Jean-Marie François¹ & Jean-Pascal Capp¹

helene.martin@insa-toulouse.fr

¹Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés (UMR CNRS 5504 ; UMR INRA 792) INSA de Toulouse - 135, avenue de Rangueil 31077 Toulouse Cedex 4 France

² INRA, UMR 1083 Sciences Pour l'Œnologie, 34060 Montpellier, France

Stochasticity (or 'noise') in gene expression has been involved in a wide range of biological phenomena including appearance of resistance to environmental stresses, and adaptability to fluctuating environments. Increase in phenotypic fluctuations through noise in gene expression is clearly a relevant evolutionary strategy in selective environments. Here we used a genome wide approach to identify promoters associated with high level of noise in the sequenced oenological *Saccharomyces cerevisiae* strain EC1118. After partial genome digestion, genomic fragments were cloned in a promoter-less green fluorescent protein (GFP) coding vector to create a GFP-fused genomic library. Yeast populations containing this library were enriched for promoters harbouring high level of noise in gene expression by several rounds of fluctuating selection for GFP expression using FACS. Sequencing of 310 fragments identified 295 uniquely mapped regions, among which 22 were found to contain genetic variations compared to their counterpart in the sequenced laboratory strain S228C. We selected for further investigations 5 of these fragments corresponding to promoter regions of selected genes, because we hypothesize that these variations are possibly involved in differences of noise levels. Indeed as noise level seems to be evolvable and associated with gene function, these variations in noise levels between *S. cerevisiae* strains could have been selected thanks to the benefit conferred by expression heterogeneity in the stressful and fluctuating conditions frequently experimented by technological strains. Our aim is to confirm these differences of noise levels and to study their consequences in terms of stress adaptation and tolerance.

Mots-clés : Gene expression, stochasticity, environmental stress, adaptation

P107 - Une nouvelle stratégie d'étude de la communication bactérienne : l'identification du peptidome exocellulaire de *Lactococcus lactis*

Alain Guillot¹, Christophe Gitton², Mylène Boulay², **Véronique Monnet**^{1,2} & Vincent Juillard²

veronique.monnet@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 MICALIS, PAPPSO, 78352 Jouy-en-Josas cedex

² INRA, UMR1319 MICALIS, Peptides et Communication Bactérienne, 78352 Jouy-en-Josas cedex

Chez les bactéries à Gram-positif, la communication entre bactéries est assurée par des peptides de signalisation. Ils doivent s'accumuler dans le milieu exocellulaire au-delà d'une concentration seuil, pour pouvoir être perçus par les bactéries environnantes et déclencher une réponse adaptative. Ces peptides de signalisation peuvent avoir différentes origines. Ils peuvent être un fragment de la séquence signalant spécifiant l'exportation d'une protéine exocellulaire (exemple du peptide induisant la conjugaison chez *Enterococcus faecalis*). Ils peuvent également être issus de la transcription de petits gènes (exemple du peptide inducteur de la compétence chez *Streptococcus thermophilus*).

Les peptides de signalisation connus aujourd'hui ont pour la plupart été identifiés par une démarche spécifique, développée dans le cadre de l'étude de la réponse qu'ils conditionnent. L'objectif de ce travail était d'identifier de façon la plus exhaustive possible le peptidome de *L. lactis*, c'est-à-dire l'ensemble des peptides s'accumulant dans le milieu de culture.

Une première étape a consisté à ré-analyser les séquences des génomes disponibles de *L. lactis* (n = 7) à l'aide du logiciel SHOW (<http://migale.jouy.inra.fr>). Cette étape avait pour but de prédire les séquences codantes de petite taille (180 bp ou moins), dont le nombre est largement sous-estimé dans les banques publiques. Selon les souches, de 321 (souche IO-1) à 606 (souche A76) séquences codant des peptides putatifs comprenant de 10 à 60 acides aminés (inclus) ont ainsi été prédites, soit en moyenne 5 fois plus que les données de la banque NCBI. La sous-espèce *cremoris* semble compter plus de petits gènes que la sous-espèce *lactis*.

Pour caractériser le peptidome exocellulaire de l'une de ces souches (*L. lactis* IL1403), une méthodologie spécifique a été développée : culture dans un milieu chimiquement défini initialement dépourvu de peptides jusqu'en fin de phase exponentielle de croissance ; isolement des peptides, enrichissement et double séparation chromatographique avec identification par spectrométrie de masse en tandem. De l'ordre de 2000 séquences peptidiques distinctes ont été identifiées, correspondant à plus de 350 protéines différentes. Les 2/3 de ces séquences peptidiques dérivait de protéines non-cytoplasmiques, ce qui révèle une intense activité protéolytique de surface et une lyse cellulaire modérée.

Des fragments de séquences signales d'exportation de plusieurs lipoprotéines (OptA, YvdF, YjgC et PmpA) et protéines sécrétées (Usp45, YrbB, pi301, PspB et PotD) ont été retrouvés dans le milieu exocellulaire. Selon les protéines considérées, ces fragments couvraient de 40% à l'intégralité de la séquence signalante. De l'ordre d'une dizaine de peptides issus de la traduction de petites séquences codantes ont également été identifiés, dont plus de la moitié ne figurent pas dans la banque NCBI. La présence de régulateurs transcriptionnels à proximité de certaines de ces petites séquences codantes suggère une implication de ces petits peptides dans des mécanismes de signalisation cellulaire, hypothèse actuellement à l'étude.

Références bibliographiques :

Ibrahim M., Nicolas P., Bessières P., Bolotin A., Monnet V., Gardan R. (2007) 153, 3631-3644.

Gardan R., Besset C., Guillot A., Gitton C., Monnet V. (2009) Journal of Bacteriology, 191, 4647-4655.

Fleuchot B., Gitton C., Guillot A., Vidic J., Nicolas P., Besset C., Fontaine L., Hols P., Leblond-Bourget N., Monnet V., Gardan R. (2011) Molecular Microbiology, 80(4), 1102-1119.

Mots-clés : signalisation, streptocoques, peptide, quorum sensing, petites ORFs

P108 - Caractérisation des TAG lipases associées aux corps lipidiques chez la levure *Yarrowia lipolytica*

T. Dulermo ^{1,2,*}, B. Tréton ¹, A. Beopoulos ^{1,2}, A.P. Kabran Gnankon ^{1,**}, R. Haddouche ^{1,***} & **Jean-Marc Nicaud** ²

jean-marc.nicaud@grignon.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

² CNRS, Micalis, F-78350 Jouy-en-Josas, France

* Institut Microbiologie et Génétique UMR8621 - Université Paris Sud 11, Orsay, France

** Oxyrane Belgium NV, Technologiepark 3, 9052 Gent-Zwijnaarde, Belgium

*** Division of Biological Sciences, University of California, San Diego, 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093, USA

Chez les eucaryotes les réserves de lipides sont stockées, essentiellement sous forme de triglycérides ou TAG (pour triacylglycérol) et d'esters de stérols (SE), dans des organites appelés corps lipidiques (CL). Chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, trois TAG lipases associées aux CL et codées par les gènes *TGL3*, *TGL4* et *TGL5* dégradent ces TAG en cas de carence en carbone. Par homologie de séquence, deux gènes *TGL* ont été identifiés chez la levure oléagineuse *Yarrowia lipolytica*, *YITGL3* et *YITGL4*, mais on observe des différences marquantes entre leurs produits et ceux des gènes de *S. cerevisiae* : YITgl3p et YITgl4p présentent dans leur partie N-terminale un segment hydrophobe susceptible d'être transmembranaire que ne possèdent pas leurs homologues, et dans le site actif de YITgl3p un résidu lysine remplace une sérine très conservée du consensus (G/A)XSXG typique des enzymes lipolytiques, ce qui la rend probablement non fonctionnelle. Cependant la délétion de *YITGL3*, de *YITGL4* ou de ces deux gènes à la fois conduit au même phénotype, l'absence de mobilisation des réserves cellulaires de TAG en cas de besoin. Pour élucider ce paradoxe, nous avons émis l'hypothèse que YITgl3p est nécessaire à la localisation correcte de YITgl4p dans les CL, ou qu'elle l'active ou encore la stabilise. Des analyses de lipides totaux et des observations des corps lipidiques colorés spécifiquement ont été menées sur la souche sauvage et les souches mutantes cultivées dans différentes conditions, et des fusions entre les protéines YITgl entières ou réduites à leurs segments transmembranaires N-terminaux et des protéines fluorescentes ont été exprimées dans ces souches afin de suivre leur localisation. Les résultats de ces observations seront présentés et discutés.

Mots-clés : Levure, *Yarrowia lipolytica*, métabolisme lipidique, triglycéride lipase, lipide remobilisation

P109 - Stratégies pour la caractérisation du mécanisme de résistance aux fongicides de type MDR (MultiDrug Resistance) chez des isolats de *Mycosphaerella graminicola* fortement résistants aux IDM

Selim Omrane¹, Anne-Sophie Walker¹, Catherine Lanen¹, Lamia Aouini², Gert H.J. Kema² & Sabine Fillinger¹

selim.omrane@versailles.inra.fr,

¹ INRA, UR BIOGER-CPP, Avenue Lucien Brétignières, F78850 Thiverval-Grignon, France

² Plant Research International, Wageningen, The Netherlands

Le mécanisme de la résistance de type MDR (MDR pour MultiDrug Resistance mechanism) est développé par divers organismes vivants, allant de la simple cellule cancéreuse chez l'humain aux champignons phytopathogènes. Sélectionné, il confère un spectre de résistance croisé à une large gamme de produits chimiques ou de médicaments ayant des modes d'actions indépendants. Ce mécanisme repose sur un système de transport à efflux de type ABC (ATP Binding Cassette et/ou MFS (Major Facilitator Superfamily) potentiellement surexprimé qui expulse activement le composé cible en dehors de la cellule. En agriculture, la MDR a été observée dans les populations de *Zymoseptoria tritici* (syn. *Septoria tritici* ; f. sex. *Mycosphaerella graminicola*) de blé tendre depuis 2007 en France et au Royaume-Uni. Bien que la fréquence de ces isolats est à ce jour encore faible (< 10% de la population de *Z. tritici* au champ), ce nouveau mécanisme de résistance présente un risque en pratique important pour les produits phytosanitaires homologués, en particulier pour les IDMs (inhibiteurs de la 14- α déméthylase). Deux isolats MDR (MDR 6 et 7) ont été caractérisés sur la base de leurs niveaux élevés de résistance aux fongicides. Trois stratégies principales ont été adoptées pour identifier et caractériser le mécanisme de résistance : (i) Etudier la relation entre les phénotypes MDR et un système de transport d'efflux à l'aide d'une technique impliquant des molécules fongicides radio-marquées et des modulateurs de l'activité de systèmes de transports membranaires. (ii) Discriminer les transporteurs surexprimés ainsi que d'autres gènes impliqués dans le phénotype MDR par une étude comparative du type RNAseq entre souches MDR et souches sensibles. (iii) Localiser la mutation co-ségrégant avec le phénotype MDR par une approche NGS (Next Generation Sequencing) couplée à un phénotypage du type BSA (Bulk Segregant Aalysis). Les derniers résultats sont présentés et discutés.

Références bibliographiques :

Leroux P., Albertini C., Gautier A., Gredt M., & Walker A. S., (2007) Pest Management Science 63: 688-98

Leroux P and Walker A-S (2010) Pest Management Science 67: 44-59

Roohparvar R, Mehrabi R., Van Nistelrooy JGM, Zwiers LH, and De Waard MA (2008) Pest Management Science 64:685–693

Sharom FJ (2008) Pharmacogenomics 9 (1), 105-127.

Nowrousian M., Teichert I., Masloff S. and Kück U (2012) 2012 Feb ; 2(2):261-70. Epub 2012 Feb 1.

Mots-clés : *Mycosphaerella graminicola*, MDR, modulateurs, IDMs, transporteurs, ABC, RNAseq, NGS, BSA

P110 - A peptide-based cell cell communication mechanism in *Streptococcus agalactiae*

David Pérez-Pascual^{1,2}, Philippe Gaudu^{1,2}, Véronique Monnet^{1,2} & Rozenn Gardan^{1,2}

Rozenn.Gardan@jouy.inra.fr

¹ INRA, UMR1319 MICALIS, Jouy en Josas, France. ²AgroParistech, UMR MICALIS, F-78352 Jouy en Josas, France.

Streptococcus agalactiae (GBS) causes infections mainly in newborns. The Rgg-like RovS transcriptional regulator controls the expression of some GBS virulence factors in strain 6313. We have recently discovered that specific peptides (SHP) are signaling molecules that control the activity of a subfamily of Rgg regulators. We suspected that RovS belongs to this family and studied the role of SHP toward the activity of RovS and its role in virulence in GBS strain NEM316.

Using a transcriptional fusion and gene deletion approaches, we have shown that the *shp* gene is not expressed in the *rovS* deleted mutant, and is stimulated by the addition of synthetic SHP in the growth medium. These results indicate that *shp* expression is positively controlled both by RovS and SHP. Using a label-free proteomic approach combining SDS-PAGE with LC-MS, we compared the secretome of the wild type strain with the *rovS* deleted mutant in order to identify additional targets. We have already identified at least one secreted protein with unknown function. Interestingly this protein is found only in GBS species. Preliminary virulence results on mice showed that the *rovS* deleted mutant presents a mortality decrease of around 60% compared to that of the wild-type strain NEM316, confirming the importance of RovS in the full virulence.

In conclusion, the SHP/Rgg system is active in GBS, being the cell cell communication mechanism similar to those described for other streptococci. The identification and the study of the targets of Rgg will allow an increase in the understanding of pathogeny of GBS.

Mots-clés : *Streptococcus agalactiae*, rgg

P111 - Authentification taxonomique des *Xanthomonas* du CIRM-CFBP

Martial Briand, Nadia Mhedbi-Hajri, Céline Fricot, Sophie Bonneau, Géraldine Taghouti, **Perrine Portier**,
Marion Fischer-Le Saux

perrine.portier@angers.inra.fr

INRA, IRHS, CIRM-CFBP, 42 rue Georges Morel, BP60057, F-49071 Beaucouze cedex

Le CIRM-CFBP, Collection Française de Bactéries associées aux Plantes est un centre de ressources biologiques certifié ISO 9001, qui met à la disposition de la communauté scientifique internationale 6000 souches bactériennes représentant plus de 435 taxons répartis dans 58 genres, pour la plupart pathogènes de plantes.

Aujourd'hui, une priorité du CIRM-CFBP est de ré-identifier l'ensemble des souches conservées, a minima au niveau de l'espèce, à l'aide d'outils moléculaires adaptés. En effet, la collection a bientôt 40 ans et de nombreuses souches ont été acquises il y a plus de 20 ans. A cette époque, l'identification était principalement basée sur des caractères phénotypiques. L'évolution des méthodes d'identification et les remaniements taxonomiques affectant les taxons de bactéries phytopathogènes entraînent la nécessité de re-identifier nos ressources à l'aide de méthodes adaptées aux schémas de classification les plus récents.

De nombreux travaux ont montré la pertinence du séquençage partiel des gènes de ménage pour l'identification bactérienne. Au CIRM-CFBP, nous avons choisi de caractériser les souches à l'aide de deux gènes de ménage pour éviter des erreurs d'interprétation dues à d'éventuels événements de recombinaison homologue.

Les séquences partielles des gènes *gyrB* et *rpoD* ont été obtenues pour l'ensemble des 1200 *Xanthomonas* du CIRM-CFBP. Grâce à cette approche, nous avons confirmé le statut taxonomique de la quasi-totalité des souches, détecté quelques erreurs d'assignation et identifié l'espèce de souches au statut taxonomique jusqu'alors indéterminé ou incertain en raison de remaniements taxonomiques.

Les séquences ainsi obtenues alimentent l'outil d'aide à l'identification « Phylosearch », en ligne sur notre site web. Afin de guider les utilisateurs dans le choix des souches, une mention relative à l'authentification a été ajoutée sur les fiches des souches du genre *Xanthomonas* (voir <http://www.angers.inra.fr/cfbp/>).

Mots-clés : taxonomie, centre de ressources biologiques, *Xanthomonas*, phylogénie

P112 - Amélioration de la méthode MicroResp™ de caractérisation rapide de la production microbienne de CO₂ avec/sans apport de substrats.

Pierre Renault¹, Meriem Ben Sassi^{1,2}, Annette Bérard¹

pierre.renault@avignon.inra.fr

¹ INRA, UMR 1114 EMMAH, Domaine St-Paul, site Agroparc, F-84914 Avignon Cedex 9, France

² ADEME, 20 Avenue du Grésillé, BP 90406, F-49004 ANGERS Cedex 01, France

La méthode MicroResp™ permet de mesurer la respiration microbienne de petites aliquotes de sol en tirant profit du format microplaque du test Biolog™ et de la mesure colorimétrique de la teneur en CO₂ sur un gel d'Agar contenant du rouge de crésol (Campbell et al., 2003). Elle donne accès à la production CO₂, et permet de caractériser une biodiversité fonctionnelle par l'ajout de substrats divers. La méthode tient compte du CO₂ en phase gazeuse, et un travail a proposé d'y ajouter le CO₂ dans la solution du sol (Oren et al., 2008), en ignorant ses effets sur le pH de la solution et la dissolution de calcite en sol calcaire.

Nos objectifs étaient d'améliorer encore cette méthode (i) en tenant compte du CO₂ dans le gel, (ii) en affinant l'évaluation du CO₂ d'origine microbienne dans le sol en explicitant ses effets, ceux des substrats et de la calcite sur le pH de la solution, en quantifiant la dissolution de la calcite, et (iii) en vérifiant l'hypothèse d'un quasi-équilibre de distribution du CO₂ entre (calcite,) solution du sol, phase gazeuse et gel après incubation.

Nous avons développé un modèle décrivant sur la base d'équilibres thermodynamiques (a) les transferts de CO₂ entre (calcite,) solution du sol, air et gel, (b) pour le gel ou le sol la dissociation de l'eau et les dissociations en solution de l'acide carbonique, du rouge de crésol, de substrats acides ou alcalins, (c) les échanges entre cations adsorbés et cations en solution dans le gel, et (d) la dissolution de calcite dans le sol. Un travail expérimental a permis (e) de calibrer pour le gel les relations entre absorbance, pH, et teneur en CO₂ de l'air, (f) d'évaluer le caractère thermodynamique de la dissolution de calcite et l'aptitude du modèle à décrire la relation entre pH du sol et pression partielle de CO₂, et (g) de tester l'existence ou non d'un quasi-équilibre entre air et gel pour 6 h d'incubation.

Nous avons montré qu'on peut modéliser les processus impliqués dans le devenir du CO₂ dans les puits des microplaques (Ben Sassi et al., 2012). La quantité initiale de CO₂ dans le gel dépend de la conservation des plaques avec gel (mode et durée), la présence de chaux sodée tendant à extraire le CO₂ apporté sous forme de NaHCO₃. La proportion finale de CO₂ stocké dans le gel est d'autant plus importante que la teneur finale en CO₂ de l'air est faible. Des incubations sur moins de 4 heures amènent à sous-estimer la respiration, en raison de la lenteur du transfert de CO₂ entre air et gel. La quantité de CO₂ dans le sol ne peut pas être négligée, mais une augmentation de teneur dans l'air diminue le pH du sol et favorise la dissolution de calcite en sol calcaire. La production de CO₂ des sols sans apport de substrat conduit souvent à une teneur finale en CO₂ inférieure à 0,4%, il est alors important de bien estimer la teneur initiale de CO₂ (entre 0,04 et plus de 0,1%), voire de la mesurer indirectement par des puits restés vides. Plus généralement, il est nécessaire de bien contrôler la température expérimentale qui affecte les constantes thermodynamiques et l'activité microbienne.

Références bibliographiques :

Campbell, C.D., Chapman, S.J., Cameron, C.M., Davidson, M.S., Potts, J.M., 2003. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 3593–3599.

Oren A., Steinberger Y., 2008. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2569–2577.

Ben Sassi M., Bérard A., Renault P. 2012. *Eurosoil 2012, Bari (Italy) du 2 au 6/07/2012*. Poster Session (with Abstract).

Mots clés : Respiration induite par substrats, MicroResp, Méthode, artefacts, chimie

P113 - Impact des déséquilibres nutritionnels sur les fermentations alcooliques : un excès d'azote augmente la mort cellulaire des levures en conditions de limitation en lipides.

Catherine Tesniere^{1,2,3}, Pierre Delobel^{1,2,3}, Martine Pradal^{1,2,3}, Bruno Blondin^{1,2,3},

tesniere@supagro.inra.fr

¹INRA, UMR1083, Sciences pour l'Oenologie, F-34060 Montpellier, France ;

² Montpellier SupAgro, UMR1083, Sciences pour l'Oenologie, F-34060 Montpellier, France

³UM1, UMR1083, Sciences pour l'Oenologie, F-34060 Montpellier, **France**

Nous avons évalué l'impact de déséquilibres en lipides et en azote sur la mort cellulaire d'une souche œnologique (type EC1118) en conditions de fermentation alcoolique. La limitation en lipides, principalement celle en ergostérol, conduit pendant la phase stationnaire à une augmentation rapide de la mortalité. La vitesse de mort cellulaire est fortement modulée par la quantité d'azote, avec une survie réduite en présence d'un excès d'azote. Ces levures présentent alors une teneur moindre en tréhalose et glycogène que les cellules en milieu limité en azote. En revanche, la limitation en lipides réduit le signal stress HSP12 (évalué par mesure de l'expression yEGFP sous contrôle du promoteur HSP12). Nous avons mis en évidence que la mortalité des cellules est fortement réduite chez une souche délétée SCH9, suggérant que la voie de signalisation passant par Sch9p est impliquée dans l'accroissement de la mort des cellules par excès d'azote.

Mots-clés : *Saccharomyces cerevisiae*, alcoolic fermentation, nutrients, mortality

P114 - *Campylobacter* sous hautes pressions

Clémence Bièche^{a,b,d}, Marie de Lamballerie^{a,b}, Didier Chevret^c & **Odile Tresse^{b,d}**

odile.tresse@oniris-nantes.fr

^(a) CNRS UMR6144 GEPEA, Nantes, F-44307, France ;

^(b) LUNAM Université, Oniris, Univ Nantes, F-44307, France

^(c) INRA, UMR1319 MICALIS, PAPPISO, Jouy-en-Josas, F-78352, France

^(d) INRA, UMR1014 SECALIM, Nantes, F-44307, France

Campylobacter est le pathogène le plus fréquemment isolé lors de gastroentérites bactériennes d'origine alimentaire dans le monde. Le procédé hautes pressions (HP) a été appliqué sur *C. jejuni* afin de déterminer d'une part son barème d'inactivation en fonction du pH, de la température et des souches et d'autre part son mode d'action.

Un effet bactéricide a été obtenu à 400 MPa pour toutes les conditions avec une réduction d'au moins 7 log. Le pH et les souches n'ont pas eu d'effet sur le traitement à 20°C alors qu'à 37°C l'effet bactéricide peut être obtenu en deçà de 400 MPa en fonction du pH appliqué et des souches impliquées. Une étude plus approfondie sur la dynamique du protéome de *C. jejuni* durant une séquence choc sublétal-recouvrement a révélé que les HP entraînent la mort cellulaire par une altération de la membrane cellulaire dû à un stress oxydant. L'induction d'un stress oxydant par les HP est une conséquence du déséquilibre entre l'anabolisme et le catabolisme qui conduit à la production de formes réactives à l'oxygène (FRO). Cette bactérie microaérobie est en effet très sensible aux FRO. Cette étude a également apporté des réponses sur les mécanismes de réparation mis en œuvre par *C. jejuni* après un choc. Le rôle clé de certaines isoformes de DnaK, une molécule intervenant dans le repliement des protéines, et de FabH, une enzyme intervenant dans la synthèse des acides gras membranaires, a été mis en évidence dans la réparation des dommages induits par les HP chez cette bactérie. Au cours de la phase de recouvrement, l'aspartate, catabolisé par l'aspartate lyase (AspA), constitue la source essentielle de carbone pour alimenter le cycle du citrate et faire ainsi fonctionner la gluconéogénèse chez cette bactérie asaccharolytique.

Le traitement HP pourrait alors constituer une alternative aux procédés thermiques pour contrôler la contamination des denrées alimentaires par *Campylobacter* tout en préservant des qualités organoleptiques et nutritionnelles des aliments.

Références bibliographiques :

Bièche C., de Lamballerie M., Chevret D., Federighi M. and O. Tresse. Journal of Proteomics, 2012, 75:1144-1156.

Bièche C., de Lamballerie M., Federighi M., Le Bail A. and O. Tresse. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 1189:143-148.

Bièche C., Ritz M., Tresse O., Federighi M., and de Lamballerie M. Letters in Applied Microbiology, 2009, 48:198-202.

Mots-clés : *Campylobacter*, hautes-pressions, proteomique, recouvrement, HPSP

P115 - Proteomic approach for bacteria of food interest identification: on-plate trypsinolysis followed by MALDI-MS/MS

M. Bourgeois, V. Chuat, S. Lortal, **Florence Valence-Bertel**, J. Jardin

florence.valence-bertel@rennes.inra.fr

UMR 1253 Science et technologie du lait et de l'œuf, INRA Rennes

Whatever the field (clinical or environmental), classification and identification of bacterial strains is fundamental. For fermented foods industries, bacterial identification is a key element for risk assessment. Bacteria of food interest, mainly represented by lactic acid bacteria, are a major part of many fermented products and are found in a variety of environments. Thus the development of a rapid and simple method for their identification is particularly relevant. Most of the techniques currently used are based on molecular approaches or conventional carbohydrates use tests. However, these methods are generally time consuming. This is why MALDI Mass Spectrometry approach has been developed and is now able to determine the species within a few minutes. The first approach, based on bacterial mass fingerprinting, is now well known and widespread in clinical microbiology, but it requires commercial software package. We decide here to explore an alternative approach based on proteomics and using genomic databases freely available online. One of our objectives was to develop an automated method performing high throughput identification.

MALDI MS/MS experiments were performed after *in situ* trypsinolysis, directly on MALDI plate. For this approach we used the on line UniProt database (<http://www.uniprot.org>). Samples, after trypsin digestion, were analyzed in parallel with nano LC-ESI-MS/MS technique as a control. All mass spectra were recorded using a hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometer QStar XL.

We developed the method for five bacterial genera: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, and *Propionibacterium*. A total of 26 species of food interest, represented by type strains, were then studied. *Staphylococcus aureus* (type strain) was also analyzed in order to have a point of comparison with a species extensively sequenced for which a very large number of proteomic data exists in databases. For a species, the higher number of strains sequenced, the more efficient the identification by proteomic approach. Thus, the limit of our method is the number of data available for each species in database. Thanks to the new generation sequencing technologies, the number of bacterial species sequenced is increasing exponentially and this would not be a limit any longer. Thus, the obtained results highlight the interest of the proteomic approach for identification by Mass Spectrometry.

Mots-clés : identification, proteomic, Maldi Mass Spectrometry

P116 - Identification d'états physiologiques améliorant la résistance à la lyophilisation de *Lactococcus lactis* par la modulation de paramètres de fermentation

Hélène Velly¹, M. Bouix¹, F. Fonseca¹

helene.velly@grignon.inra.fr

Poster
Doctorant

¹ INRA, AgroParisTech, UMR782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, 78850 Thiverval-Grignon

Les bactéries lactiques jouent un rôle majeur dans le marché industriel des produits fermentés grâce à leurs nombreuses propriétés technologiques. Ces microorganismes sont en effet très largement commercialisés sous forme concentrée, congelée ou lyophilisée pour des usages dans le domaine alimentaire mais aussi pharmaceutique et chimique. Cependant les procédés de stabilisation (congélation et lyophilisation) représentent des étapes de stress qui conduisent à de faibles taux de survie et des pertes de fonctionnalités des microorganismes.

Différentes études ont montré l'influence des conditions de culture (milieu de culture, température, pH...) et de récolte (température de refroidissement, âge de récolte) sur la résistance des bactéries lactiques aux procédés de lyophilisation. Toutefois il reste encore à comprendre les mécanismes d'altération et de conservation en lien avec le parcours métabolique induit par les conditions de fermentation.

Le modèle d'étude choisi est une souche de *Lactococcus lactis* utilisée dans la fabrication fromagère et présentant une forte sensibilité à la lyophilisation.

Après avoir optimisé le milieu de culture et sélectionné une formule lyoprotectrice, nous proposons ici d'étudier l'influence de trois principaux paramètres de fermentation (température, pH et âge de récolte) ainsi que leurs interactions vis-à-vis de la résistance à la lyophilisation et au stockage à température ambiante de *Lactococcus lactis*. L'objectif principal de ces travaux en cours est d'identifier des conditions de fermentation conduisant à différents états physiologiques correspondant à différentes sensibilités à la lyophilisation.

L'état physiologique des ferments concentrés est caractérisé à différentes étapes du procédé par des mesures de cultivabilité, viabilité cellulaire (cytométrie en flux) et d'activité acidifiante (CINAC^R).

La comparaison de deux états physiologiques extrêmes (faible et forte résistance à la lyophilisation) contribuera à une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires impliqués dans la survie des bactéries après stabilisation. De plus, ces résultats permettront de donner des leviers au niveau de la conduite de la fermentation pour une meilleure préservation des ferments lactiques.

Mots-clés : bactérie lactique, fermentation, lyophilisation, état physiologique, cytométrie en flux

P117 - SdiA régule positivement l'opéron *pefl-srgC* de *Salmonella* Typhimurium en se liant à une des deux régions promotrices situées en amont de *pefl*

Olivier Grépinet^{1,2,*}, Nadia Abed^{1,2,*}, Sylvie Canepa³, Philippe Velge^{1,2}, **Isabelle Virlogeux-Payant**^{1,2}

ipayant@tours.inra.fr

¹ INRA, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37380 Nouzilly

² Université de Tours, UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, F-37000 Tours

³ INRA, UMR6175 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Plate-forme d'analyse intégrative des biomarqueurs cellulaires et moléculaires, F-37380 Nouzilly

* auteurs ayant contribué de manière égale au travail

L'entérobactérie *Salmonella* est un pathogène intracellulaire facultatif, responsable des salmonelloses humaines et animales. Le caractère pathogène de *Salmonella* est étroitement dépendant de sa capacité à entrer et à se multiplier dans les cellules de l'hôte. Jusqu'à présent, le seul système d'entrée décrit pour les salmonelles était un appareil de sécrétion de type III (T3SS), le T3SS-1 (2). Récemment, nous avons caractérisé *in vitro* un nouveau système d'entrée de *Salmonella* impliquant une protéine de la membrane externe, Rck (3). Afin de mieux comprendre les conditions physiologiques d'expression de Rck, nous avons caractérisé la transcription du locus *pefl-srgC*, qui porte le cadre ouvert de lecture (ORF) *rck*, et la régulation exercée par le régulateur transcriptionnel SdiA qui avait été préalablement observée (1).

Après avoir confirmé la régulation transcriptionnelle du locus *pefl-srgC* par SdiA, le régulateur transcriptionnel du quorum sensing, nous avons montré que les six ORFs de ce locus étaient organisés en opéron. L'utilisation de fusions transcriptionnelles a permis d'identifier 2 promoteurs en amont de *pefl*, le promoteur distal P2 ayant une activité beaucoup plus forte que celle de P1 et dépendante de SdiA. Un site d'initiation de la transcription correspondant au promoteur P2 a été identifié 352 bases en amont de *pefl* et nous avons montré par des expériences de gel retard et des analyses de résonance plasmonique de surface que la protéine SdiA interagit avec la région promotrice P2. Ces résultats devraient nous aider à comprendre quand ce système d'entrée médié par Rck est exprimé *in vivo*.

Références bibliographiques :

1. Ahmer BMM, van Reeuwijk J, Timmers CD, Valentine PJ, Heffron F. 1998. *Salmonella* Typhimurium encodes an SdiA homolog, a putative quorum sensor of the LuxR family, that regulates genes on the virulence plasmid. J Bacteriol 180:1185-1193.
2. Ly KT, Casanova JE. 2007. Mechanisms of *Salmonella* entry into host cells. Cell Microbiol 9:2103-2111.
3. Rosselin M, Virlogeux-Payant I, Roy C, Bottreau E, Sizaret P-Y, Mijouin L, Germon P, Caron E, Velge P, Wiedemann A. 2010. Rck of *Salmonella enterica*, subspecies enterica serovar Enteritidis, mediates Zipper-like internalization. Cell Res 20:647-664.

Mots-clés : *Salmonella*, Rck, régulation transcriptionnelle, SdiA, quorum sensing

Liste des unités et des participants

Liste des unités représentées lors de ces journées

Sigle	Nom	Localité	Centre INRA	Dpt
AgroEcologie UMR1347	AgroEcologie	Dijon	Dijon	EA / GAP / SPE
BCF UMR1163	Biotechnologie des Champignons Filamenteux	Marseille	Provence Alpes Côte d'Azur	CEPIA / MICA
BF2I UMR0203	Biologie Fonctionnelle, Insectes et Interactions	Villeurbanne	Clermont-Ferrand - Theix	SPE
BFP UMR1332	Biologie du Fruit et Pathologie	Villeneuve d'Ornon	Bordeaux	BV / SPE
BIOEMCO UMR1122	Biogéochimie et écologie des milieux continentaux	Grignon Paris (ENS)	Versailles-Grignon	EFPA
BIOGER - CPP UR1290	BIOlogie GEstion des Risques en agriculture - Champignons Pathogènes des Plantes	Thiverval-Grignon	Versailles-Grignon	SPE
BIOSP UR0546	Biostatistique et Processus Spatiaux	Avignon	Provence Alpes Côte d'Azur	MIA
BPF USC2019	Biologie et pathogénicité fongiques	Paris (Institut Pasteur)	Jouy-en-Josas	MICA
CMAEE UMR1309	Contrôle des Maladies Animales Exotiques et Emergentes	Montferrier-sur-Lez	Montpellier	SA
DGIMI UMR1333	Diversité, Génomes et Interactions Microorganismes-Insectes	Montpellier	Montpellier	SPE
Dépt SA UAR0564 & Carnot ICSA	Département Santé animale & Institut Carnot Santé animale	Nouzilly	Tours	SA
Eco&Sols UMR1222	Ecologie Fonctionnelle et Biogéochimie des Sols et Agrosystèmes	Montpellier	Montpellier	EA / EFPA
EcoMic USC1364	Ecologie Microbienne	Villeurbanne	Clermont - Theix	SPE
EMMAH UMR1114	Environnement Méditerranéen et Modélisation des Agro-Hydrosystèmes	Avignon	Provence Alpes Côte d'Azur	EA
EPI-A UR0346	Épidémiologie Animale	Theix	Clermont - Theix	SA
FARE UMR0614	Fractionnement des AgroRessources et Environnement	Reims	Lille	CEPIA / EA
GABI UMR1313	Génétique Animale et Biologie Intégrative	Jouy-en-Josas	Jouy-en-Josas	GA
GMPA UMR0782	Génie et microbiologie des procédés alimentaires	Grignon	Versailles-Grignon	CEPIA / MICA
IAM UMR1136	Interactions arbres/microorganismes	Champenoux	Nancy	EFPA
IASP UR1282	Infectiologie animale et santé publique	Nouzilly	Tours	SA / MICA
IBC USC2020	Interactions bactéries-cellules	Paris (Institut Pasteur)	Jouy-en-Josas	MICA
IHAP UMR1225	Interactions hôtes-agents pathogènes	Toulouse	Toulouse	SA / MICA
IGEPP UMR 1349	Institut de Génétique Environnement et Protection des Plantes	Le Rheu	Rennes	SPE / GAP

Liste des unités et des participants

IJPB UMR1318	Institut Jean-Pierre Bourgin	Versailles	Versailles-Grignon	BV / GAP / CEPIA
IPP UMR0217	Interactions plantes pathogènes	Paris (AgroParisTech)	Versailles-Grignon	SPE
IRHS UMR1345	Institut de Recherche en Horticulture et Semences	Beaucouzé	Angers-Nantes	GAP / BV / EA / SPE
ISA UMR1355	Institut Sophia-Agrobiotech	Sophia Antipolis	PACA	SPE
LBE UR0050	Laboratoire de biotechnologie de l'environnement	Narbonne	Montpellier	EA / MICA
LGM UMR1128	Laboratoire de génétique et microbiologie	Vandœuvre-lès-Nancy	Nancy	MICA
LIPM UMR0441	Laboratoire interactions plantes - microorganismes	Castanet-Tolosan	Toulouse	SPE
LISBP UMR0792	Laboratoire d'ingénierie des systèmes biologiques et des procédés	Toulouse	Toulouse	MICA / CEPIA
LRF UR0545	Laboratoire de recherches fromagères	Aurillac	Clermont-Ferrand - Theix	MICA
M2ISH USC2018	Pathogénie bactérienne intestinale	Clermont-Ferrand	Clermont-Ferrand - Theix	MICA
MIAJ UR0341	Unité de recherche Mathématiques et Informatique Appliquées	Jouy-en-Josas	Jouy-en-Josas	MIA
Mic UR0454	Microbiologie	Theix	Clermont-Ferrand - Theix	MICA / SA
Micalis UMR1319	Microbiologie de l'alimentation au service de la santé	Jouy-en-Josas	Jouy-en-Josas	MICA / AlimH
Mycsa UR1264	Mycologie et sécurité des aliments	Villenave d'Ornon	Bordeaux-Aquitaine	SPE / MICA
PhAN UMR1280	Physiologie des Adaptations Nutritionnelles	Nantes	Angers - Nantes	AlimH
PV UR0407	Pathologie Végétale	Montfavet	Provence Alpes Côte d'Azur	SPE
RPC UMR0754	Rétrovirus et Pathologie Comparée	Lyon	Clermont - Theix	SA
SÉCALIM UMR1014	Sécurité des aliments et microbiologie	Nantes	Angers - Nantes	MICA
SPO UMR1083	Sciences pour l'œnologie	Montpellier	Montpellier	CEPIA / MICA
SQPOV UMR0408	Sécurité et qualité des produits d'origine végétale	Avignon	Provence Alpes Côte d'Azur	CEPIA / MICA
STLO UMR1253	Science et technologie du lait et de l'œuf	Rennes	Rennes	CEPIA / MICA
TANDEM UMR1289	Tissus Animaux, Nutrition, Digestion, Ecosystème et Métabolisme	Castanet-Tolosan	Toulouse	PHASE
TOXALIM UMR1331	Toxicologie Alimentaire	Toulouse	Toulouse	AlimH / SA
UERI-Gotheron UE0695	Unité Expérimentale Recherches Intégrées - Gotheron	Saint-Marcel-lès-Valence	Provence Alpes Côte d'Azur	SPE
VIM UR0892	Virologie et Immunologie Moléculaires	Jouy-en-Josas	Jouy-en-Josas	SA

Liste des participants avec indication des N° des résumés

- mise à jour au 20 octobre 2012
- **les numéros des résumés des auteurs-présentateurs sont indiqués en gras**
- O = communication orale
- P = poster

Nom	Prénom	Email	Unité	Dpt	N° du résumé
ABBAS	Amina Aïcha	amina.abbas@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	P79
ABEIJON MUKDSI	Maria Claudia	claudia.abeijon@rennes.inra.fr	STLO UMR1253	MICA	P1
ABRAHAM	Anne-Laure	anne-laure.abraham@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O5
ADOUARD	Nadège	nadege.adouard@grignon.inra.fr	GMPA UMR782	MICA	P80
ALLOING	Geneviève	alloing@unice.fr	ISA UMR1355	SPE	P32
ANBA-MONDOLONI	Jamila	jamila.anba@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P2, P11
ANDURAND	Dominique	dominique.andurand@avignon.inra.fr	PV UR0407	SPE	-
ARRICAU-BOUVERY	Nathalie	nbouvery@bordeaux.inra.fr	BFP UMR1332	SPE	P33, P49
AUBRY	Camille	camille.aubry@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	-
AVIAT	Florence	florence.aviat@oniris-nantes.fr	SECALIM UMR1014	MICA	P3
AYMERICH	Stéphane	stephane.aymerich@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O9
BAILLY	Xavier	xavier.bailly@clermont.inra.fr	EPI-A UR0346	SA	P70
BARANOWSKI	Eric	e.baranowski@envt.fr	IHAP UMR1225	SA	-
BARBI	Florian	florian.barbi@wanadoo.fr	EcoMic USC1364	EFPA	O3
BARDIN	Marc	marc.bardin@avignon.inra.fr	PV UR0407	SPE	-
BARNARD	Romain	romain.barnard@dijon.inra.fr	AgroEcologie UMR1347	EA	-
BARNY	Marie-Anne	barny@agroparistech.fr	IPP UMR0217	SPE	P34
BAUCHERON-MONNIER	Sylvie	sylvie.baucheron@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	P45, P81
BECKERICH	Jean-Marie	Jean-Marie.Beckerich@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O6, P4, P5, P9
BERA-MAILLET	Christel	christel.maillet@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P6
BERARD	Annette	annette.berard@paca.inra.fr	EMMAH UMR1114	EA	-
BERGE	Odile	odile.berge@avignon.inra.fr	PV UR0407	SPE	O4
BERMUDEZ-CORTEZ-PEREZ	NAIMA	naima.cortes-perez@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P43, O20
BERTIN	Clothilde	clothilde.bertin@cirad.fr	CMAEE UMR1309	SA	P35

Liste des unités et des participants

BEZINE	Elisabeth	elisabeth.bezine@toulouse.inra.fr	TOXALIM UMR1331	AlimH	P36
BIERNE	Hélène	hbierne@pasteur.fr	IBC USC2020	MICA	P67
BIET	Franck	Franck.biet@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	P37, P82, P83, P98
BISCH	Gaëlle	gaelle.bisch@etud.univ- montp2.fr	DGIMI UMR1333	SPE	P38, P66
BORKOWSKI	Olivier	olivier.borkowski@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O9
BOUCHARD	Damien	damien.bouchard@rennes.inra.fr	STLO UMR1253	MICA	P19, P39 , P68
BOUCHER	Christian	christian.boucher@toulouse.inra. fr	LIPM UMR0441	SPE	-
BRICE	Claire	brice@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	MICA	P20
BRILLARD	Julien	julien.brillard@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	P7, P89
BROUSSOLLE	Veronique	veronique.broussolle@avignon.in ra.fr	SQPOV UMR408	MICA	P7
BRUAND	Claude	Claude.Bruand@toulouse.inra.fr	LIPM UMR0441	SPE	P40, P71
CALLON	Cécile	callon@clermont.inra.fr	LRF UR545	MICA	-
CAMARASA	Carole	camarasa@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	MICA	O11, P27
CANDRESSE	Thierry	Thierry.Candresse@bordeaux.inr a.fr	BFP UMR1332	SPE	page 143
CAPOWIEZ	Line	line.capowiez@avignon.inra.fr	EMMAH UMR1114	EA	P96
CARLIN	Frederic	frederic.carlin@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	-
CASAREGOLA	Serge	serge.casaregola@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	<i>page 25, P8,</i> P9, P21
CHAILLOU	Stephane	stephane.chaillou@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P10, P43
CHAIN	Florian	florian.chain@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	AlimH	P41, P42
CHAMOT	Stéphanie	stephanie.chamot@avignon.inra. fr	SQPOV UMR408	MICA	-
CHANTELOUP	Nathalie	Nathalie.Chanteloup@tours.inra.f r	ISP UMR1282	MICA	P59
CHAPOT- CHARTIER	Marie-Pierre	Marie-Pierre.Chapot@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P43, O24
CHAZE	Thibault	thibault.chaze@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P44
CHENEVOTOT	Hélène	helene.chenevotot@avignon.inra .fr	UERI- Gotheron UE0695	SPE	-
CHIPOT	Ludovic	ludovic.chipot@univ-lorraine.fr	LGM UMR1128	MICA	P84
CITTI	Christine	c.citti@envt.fr	IHAP UMR1225	SA	-
CLAVEL	Thierry	thierry.clavel@univ-avignon.fr	SQPOV UMR408	MICA	P7, P87
CLOECKAERT	Axel	Axel.Cloeckaert@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	P45, P81, P85, P90

Liste des unités et des participants

COCAIGN-BOUSQUET	Muriel	cocaign@insa-toulouse.fr	LISBP UMR792	MICA	O7, P22, P29
CORNET	Monique	monique.cornet@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P2, P11
CORTHESEY	Blaise	Blaise.Corthesy@chuv.ch	CHUV Lausanne		page 80
COUGNOUX	Antony	antony.cougnoUX@udamail.fr	M2iSH USC2018	MICA	P46, P47
COUVIGNY	Benoit	benoit.couvigny@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P48
CRUZ DE MATOS	Renata	Renata.Cruzdematos@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O20
DAJKOVIC	Alex	adajkovic@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	-
DARGAIGNARATZ	Claire	claire.dargaignaratz@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	-
DE JONG	Hidde	Hidde.de-Jong@inria.fr	INRIA Grenoble		page 51
DE PAEPE	Marianne	marianne.depaepe@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P86
DE SARRAU	Benoît	benoit.desarrau@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	P87
DEBIEU	Danièle	debieu@versailles.inra.fr	BIOGER CPP UR1290	SPE	P88
DELBES-PAUS	Céline	celine.delbes@clermont.inra.fr	LRF UR545	MICA	-
DEQUIN	Sylvie	dequin@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	MICA	O11, P27, P101, P104, P106
DESPRES	Jordane	jordane.despres@clermont.inra.fr	MIC UR454	MICA	-
DESVAUX	Mickael	mickael.desvaux@clermont.inra.fr	Mic UR454	MICA	-
DEVEAU	Aurélie	deveau@nancy.inra.fr	IAM UMR1136	EFPA	O17
DIOMANDE	Sara	sara-esther.diomande@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	P89
DORE	Joël	joel.dore@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P6, P12 , P48, P50
DOUBLET	Benoit	Benoit.Doublet@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	P81, P90
DUCHAUD	Eric	educhaud@jouy.inra.fr	VIM UR0892	SA	-
DUFFAUD	Magali	magali.duffaud@avignon.inra.fr	PV UR0407	SPE	P91
DULERMO	Rémi	remi.dulermo@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	-
DUMUR	Jérôme	jerome.dumur@univ-angers.fr	IRHS UMR1345	SPE	O19
DUPONT	Laurence	dupont@unice.fr	ISA UMR1355	SPE	O18
DURET	Sybill	duret@bordeaux.inra.fr	BFP UMR1332	SPE	P33
ELIAUTOUT	Rémi	remi.eliautout@bordeaux.inra.fr	BFP UMR1332	SPE	P49
ENJALBERT	Brice	brice.enjalbert@insa-toulouse.fr	LISBP UMR792	MICA	O8
ESTELLE-FABRELLAS	Jordi	jordi.estelle@jouy.inra.fr	GABI UMR1313	GA	P50

Liste des unités et des participants

FALENTIN	Hélène	helene.falentin@rennes.inra.fr	STLO UMR1253	MICA	P1, P16, P51
FAULDS	Craig	craig.faulds@univ-amu.fr	BCF UMR1163	CEPIA	-
FAVEL	Anne	anne.favel@univ-amu.fr	BCF UMR1163	CEPIA	P8, P102
FILLINGER	Sabine	sabine.fillinger@versailles.inra.fr	BIOGER CPP UR1290	SPE	O19, P88, P109
FORANO	Evelyne	evelyne.forano@clermont.inra.fr	Mic UR454	MICA	-
FROISSARD	Marine	marine.froissard@versailles.inra.fr	IJPB UMR1318	CEPIA	P21
GALEOTE	Virginie	ansanay@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	MICA	P101, P104
GALES	Amandine	amandine.gales@supagro.inra.fr	LBE UR50	MICA	P92
GALIANA	Eric	galiana@sophia.inra.fr	ISA UMR1355	SPE	P52 , P60
GARDAN	Rozenn	Rozenn.Gardan@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P93 , P94, P110
GASTEBOIS	Amandine	amandine.gastebois@toulouse.inra.fr	LIPM UMR0441	SPE	P53
GAUCHI	Jean-Pierre	jean-pierre.gauchi@jouy.inra.fr	MIAJ UR0341	MIA	P95
GERARD	Philippe	philippe.gerard@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	AlimH	P54
GERMON	Pierre	pierre.germon@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	O13
GIRARDIN	Guillaume	guillaume.girardin@avignon.inra.fr	EMMAH UMR1114	EA	P96
GIRBAL	Laurence	girbal@insa-toulouse.fr	LISBP UMR792	MICA	O7, P22 , P29
GIVAUDAN	Alain	givaudan@univ-montp2.fr	DGIMI UMR1333	SPE	P24, P65, P66
GODON	Jean-Jacques	godon@supagro.inra.fr	LBE UR50	MICA	O2, P92
GOHAR	Michel	michel.gohar@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P58
GUEDON	Eric	Eric.Guedon@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O6, P48
GUILLOU	Sandrine	sandrine.guillou@oniris-nantes.fr	SECALIM UMR1014	MICA	P97
GUINEBRETIERE	Marie-Hélène	marie-helene.guinebretiere@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	-
HAMELIN	Jérôme	jerome.hamelin@supagro.inra.fr	LBE UR50	MICA	O2, P13
HARMAND	Jérôme	harmand@supagro.inra.fr	LBE UR50	EA	-
HAUER	Amandine	amandinehauer@yahoo.fr	ISP UMR1282	MICA	P98
HAYDAR	Abbass	Abbass.Haydar@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P55
HERNANDEZ-RAQUET	Guillermína	hernandg@insa-toulouse.fr	LISBP UMR792	CEPIA	-
HEUX	Stéphanie	heux@insa-toulouse.fr	LISBP UMR792	MICA	P23
HOLBERT	Sébastien	sebastien.holbert@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	-

Liste des unités et des participants

HUILLET	Eugénie	eugenie.huillet@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	-
HUMBERT	Jean-François	humbert@biologie.ens.fr	BIOEMCO UMR1122	EFPA	O1
HURTADO-ESCOBAR	Genaro	genaro.hurtado@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	P56
HUTINET	Geoffrey	geoffrey.hutinet@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O22
IRLINGER	Françoise	irlinger@grignon.inra.fr	GMPA UMR782	MICA	O6, P14
JAN	Gwenaél	gjan@rennes.inra.fr	STLO UMR1253	MICA	P51
JOBIN	Michel	michel.jobin@univ-avignon.fr	SQPOV UMR408	MICA	P79, P99
JUBELIN	Grégory	gregory.jubelin@clermont.inra.fr	Mic UR454	MICA	P24, P57
JULES	Matthieu	matthieu.jules@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O9
KAMAR	Rita	rita.kamar@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P58
KIERS	Aurélié	akiers@sophia.inra.fr	ISA UMR1355	SPE	O18
KNUDSEN	Christelle	christelle.knudsen@toulouse.inra.fr	TANDEM UMR1289	PHASE	-
LALMANACH	Anne-Christine	Anne-Christine.Lalmanach@tours.inra.fr	ISP UMR1282	SA	P59
LANDAUD	Sophie	Sophie.Landaud@grignon.inra.fr	GMPA UMR782	MICA	O6, P4, P14
LANOIS-NOURI	Anne	lanois@univ-montp2.fr	DGIMI UMR1333	SPE	P24 , P65
LAPAQUE	Nicolas	nicolas.lapaque@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	AlimH	P48, O20
LAROUSSE	Marie	Marie.Larousse@sophia.inra.fr	ISA UMR1355	SPE	P52, P60
LARROUDE	Solène	larroude@biologie.ens.fr	BIOEMCO UMR1122	EFPA	O1
LAUBER	Emmanuelle	elauber@toulouse.inra.fr	LIPM UMR0441	SPE	P61
Le Gleuher	Marie	Marie.Legleuher@sophia.inra.fr	ISA UMR1355	SPE	-
LE LAY	Julien	julien.le-lay@paca.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	P99
Le ROUX	Xavier	xavier.leroux@fondationbiodiversite.fr	EcoMic USC1364	EFPA	-
LEBAUDY	Anne	anne.lebaudy@bordeaux.inra.fr	BFP UMR1332	SPE	P25
LEBLOND-BOURGET	Nathalie	bourget@nancy.inra.fr	LGM UMR1128	MICA	P100
LEBRETON	Alice	alice.lebreton@pasteur.fr	IBC USC2020	MICA	P67
LEGRAND	Mélanie	mlegrand@pasteur.fr	BPF USC2019	MICA	O12
LEGRAS	Jean-Luc	legrasjl@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	MICA	P101
LELOUP	Julie	jleloup@biologie.ens.fr	BIOEMCO UMR1122	EFPA	-
LEPAGE	Patricia	patricia.lepage@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	AlimH	P50, P54

Liste des unités et des participants

LESAGE-MEESSEN	Laurence	laurence.lesage-meessen@univ-amu.fr	BCF UMR1163	MICA	P102
LEVASSEUR	Anthony	anthony.levasseur@univ-amu.fr	BCF UMR1163	MICA	P26, P102
LIGOT	Julie	julie.ligot@grignon.inra.fr	GMPA UMR782	MICA	P14
LIPUMA	Justine	Justine.Lipuma@sophia.inra.fr	ISA UMR1355	SPE	O18
LORTAL	Sylvie	sylvie.lortal@rennes.inra.fr	STLO UMR1253	MICA	page 25, P1, P115
LUIS	Patricia	patricia.luis@univ-lyon1.fr	EcoMic USC1364	EFPA	O3
MACE	Sabrina	sabrina.mace@oniris-nantes.fr	SECALIM UMR1014	MICA	P103
MADEIRA	Jean-Paul	jean-paul.madeira@paca.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	-
MARSIT	Souhir	souhir.marsit@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	MICA	P104
MARTIN ROSIQUE	Rebeca	rmartinros@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O14
MARTINEZ	Ccori	ccorimartinez@gmail.com	MycSA UR1264	MICA	-
MARTIN-YKEN	Hélène	helene.martin@insa-toulouse.fr	LISBP UMR792	MICA	P105, P106
MERCIER	Vincent	mercier@avignon.inra.fr	UERI-Gotheron UE0695	SPE	-
MESSAOUDI	Soumaya	soumaya.messaoudi@oniris-nantes.fr	SECALIM UMR1014	MICA	P62
MICHEL	Catherine	Catherine.Michel@univ-nantes.fr	PhAN UMR1280	AlimH	O15
MICHELY	Stephanie	smichely@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O21
MILFERSTEDT	Kim	kim.milferstedt@supagro.inra.fr	LBE UR50	MICA	O2
MILOHANIC	Eliane	eliane.milohanic@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P63
MIQUEL	Sylvie	sylvie.miquel@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P15, O14
MISTOU	Michel-Yves	mistou@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P44, O24
MONESTIEZ	Pascal	monestiez@avignon.inra.fr	BIOSP UR546	MIA	-
MONNET	Véronique	veronique.monnet@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P93, P94, P107, P110
MONTIBUS	Mathilde	mathilde.montibus@bordeaux.inra.fr	MycSA UR1264	MICA	P64
MOSONI	Pascale	pascale.mosoni@clermont.inra.fr	Mic UR454	MICA	-
MOUAMMINE	Annabelle	annabelle.mouammine@etud.univ-montp2.fr	DGIMI UMR1333	SPE	P65
MOURET	Jean-Roch	mouretj@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	CEPIA	P27
NESME	Xavier	nesme@univ-lyon1.fr	EcoMic USC1364	SPE	-
NEU	Laurent	laurent.neu@avignon.inra.fr	PV UR0407	SPE	-

Liste des unités et des participants

NEUEGLISE	Cécile	ncecile@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P30, O21
NGUYEN-THE	Christophe	christophe.nguyen-the@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	P87
NICAUD	Jean-Marc	jean-marc.nicaud@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P28 , P30, O21, P108
NIDELET	Thibault	nidelet@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	MICA	O11
NOUAILLE	Sébastien	sebastien.nouaille@insa-toulouse.fr	LISBP UMR792	MICA	P19, P29
OGIER	Jean-Claude	Jean-Claude.Ogier@univ-montp2.fr	DGIMI UMR1333	SPE	P38, P66
OMER	Hélène	helene.omer@paca.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	-
OMRANE	Selim	selim.omrane@versailles.inra.fr	BIOGER CPP UR1290	SPE	P109
ORIOLE GAGNIER	Stéphanie	gagnier@avignon.inra.fr	SQPOV UMR408	MICA	-
PAISSE	Sandrine	paisse@insa-toulouse.fr	LISBP UMR792	CEPIA	-
PALIOWAL	Anupam	anupam.paliwal@pasteur.fr	IBC USC2020	MICA	P67
PAYOT-LACROIX	Sophie	payot@nancy.inra.fr	LGM UMR1128	MICA	P100
PEREZ-PASCUAL	David	david.perez@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P110
PETIT	Marie-Agnès	marie-agnes.petit@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O22, P86
PETON	Vincent	vincent.peton@rennes.inra.fr	STLO UMR1253	MICA	P68 , P69
PEYRAUD	Rémi	Remi.Peyraud@toulouse.inra.fr	LIPM UMR0441	SPE	O10
PHILIPPOT	Laurent	laurent.philippot@diion.inra.fr	AgroEcologie UMR1347	EA	-
PINSON-GADAIS	Laetitia	lpinson@bordeaux.inra.fr	MycSA UR1264	MICA	-
PITHON	Maude	maude.pithon@clermont.inra.fr	EPI-A UR0346	SA	P70
PLASSARD	Claude	plassard@supagro.inra.fr	Eco&Sols UMR1222	EFPA	-
PORTIER	Perrine	perrine.portier@angers.inra.fr	IRHS UMR1345	SPE	P8, P111
PREVOST	Hervé	herve.prevost@oniris-nantes.fr	SECALIM UMR1014	MICA	P62
RAHBE	Yves	yvan.rahbe@lyon.inra.fr	BF2I UMR0203	SPE	-
RAKOTOARIVONINA	Harivony	harivony.rakotoarivonina@univ-reims.fr	FARE UMR614	CEPIA	O23
RENAULT	Pierre	pierre.renault@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	O5, P48
RENAULT	Pierre	pierre.renault@avignon.inra.fr	EMMAH UMR1114	EA	P96, P112
REVOL	Pierre-Vincent	pierre-vincent.revol@reims.inra.fr	FARE UMR614	CEPIA	O23
RONFORT	Corinne	ronfort@univ-lyon1.fr	RPC UMR754	SA	-

Liste des unités et des participants

ROSSIGNOL	Aurore	aurore.rossignol@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	-
ROSSIGNOL	Tristan	tristan.rossignol@grignon.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P30
ROUSSEL	Perrine	perrine.rousseau@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	O13
SANCHIS BORJA	Vincent	vincent.sanchis@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P58
SARNIGUET	Alain	alain.sarniguët@rennes.inra.fr	LGEPP UMR 1349	SPE	P31
SAUVIAC	Laurent	Laurent.Sauviac@toulouse.inra.fr	LIPM UMR0441	SPE	P71
SCHMITT	Philippe	philippe.schmitt@univ-avignon.fr	SQPOV UMR408	MICA	P79, P99
SCHOULER	Catherine	catherine.schouler@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	P59
SEGOND	Diego	diego.segond@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P72
SERROR	Pascale	pascale.serror@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P73, O20
SIME-NGANDO	Télesphore	telesphore.sime-ngando@univ-bpclermont.fr	CNRS Univ Clermont		page 16
SPOR	Aymé	ayme.spor@dijon.inra.fr	AgroEcologie UMR1347	EA	-
STRAUB	Cécile	cecile.straub@grignon.inra.fr	GMPA UMR782	MICA	O6
TESNIERE	Catherine	Catherine.Tesniere@supagro.inra.fr	SPO UMR1083	CEPIA	P113
THIERRY	Anne	anne.thierry@rennes.inra.fr	STLO UMR1253	MICA	P1, P16
TOMAS	Julie	julie.tomas@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P17
TRESSE	Odile	odile.tresse@oniris-nantes.fr	SECALIM UMR1014	MICA	P114
TROULET	Claire	claire.troulet@avignon.inra.fr	PV UR0407	SPE	-
TURNER	Marie	marie.turner@toulouse.inra.fr	LIPM UMR0441	SPE	P74
VALENCE-BERTEL	Florence	florence.valence-bertel@rennes.inra.fr	STLO UMR1253	MICA	P8, P19, P115
VALLON	Laurent	laurent.vallon@univ-lyon1.fr	EcoMic USC1364	EFPA	O3, P18
VAN DE GUCHTE	Maarten	maarten.vandeguchte@jouy.inra.fr	Micalis UMR1319	MICA	P75, P76
VAN GIJSEGEM	Frédérique	vangijse@agroparistech.fr	IPP UMR0217	SPE	P77
VELLY	Hélène	hvelly@grignon.inra.fr	GMPA UMR782	CEPIA	P116
VIRLOGEUX-PAYANT	Isabelle	ipayant@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	O16, P45, P56, P117
WERY	Nathalie	weryn@supagro.inra.fr	LBE UR50	MICA	P92
WIEDEMANN	Agnès	awiedemann@tours.inra.fr	ISP UMR1282	MICA	O16
WINTER	Nathalie	Nathalie.Winter@tours.inra.fr	ISP UMR1282	SA	P78, P98

Liste des unités et des participants

ZAGOREC	Monique	Monique.Zagorec@oniris-nantes.fr	SECALIM UMR1014	MICA	P10
ZEMB	Olivier	olivier.zemb@toulouse.inra.fr	TANDEM UMR1289	PHASE	-
ZUNDEL	Etienne	zundel@tours.inra.fr	DSA UAR0564 et Carnot ICSA	SA	-

JMI2012 – Plan du site avec localisation des sessions posters

Domaine de Mousquety, Club Belambra

Chemin de Mousquety , 84800 L'Isle-sur-la-Sorgue

04 90 38 70 00

Amphi

Session 4 - Blanche
Hall de l'amphi
39 posters : P79 – P117

Session 3 – Interactions µ/H
Bar – Piste de danse
47 posters : P32 – P78

Session 2 – Bio Sys
Fond du bar - billard
12 posters : P20 – P31

Restaurant
(3^{ème} étage)

Session 1 - Écosystèmes
Hall de l'accueil
19 posters P1 – P19



WiFi accessible :

- dans tous les bâtiments collectifs
- chambres : uniquement dans les bâtiments Le Mas et Le Maset

Journées organisées par
le département Microbiologie et Chaîne Alimentaire – MICA
en collaboration avec les départements :

AlimH - Alimentation humaine
CEPIA - Caractérisation et élaboration des produits issus de l'agriculture
EA - Environnement et agronomie
EFPA - Écologie des forêts, prairies et milieux aquatiques
MIA - Mathématiques et informatique appliquées
PHASE - Physiologie animale et systèmes d'élevage
SA - Santé animale
SPE - Santé des plantes et environnement

Directrice de la publication : E. Maguin, chef du département MICA
Rédaction et mise en page : D. Canceill
Impression et conception graphique couverture : i&DS - @lpha.doc - Trappes
Photos de couverture (de g à d): © INRA (C. Nielsen-Leroux, H. Bierne, C. Maître, JM Nicaud)
Octobre 2012



INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
DEPARTEMENT Microbiologie et chaîne alimentaire
Centre INRA de Jouy-en-Josas
Domaine de Vilvert • 78352 Jouy-en-Josas cedex • FRANCE
Tél : +33(0)1 34 65 25 20 • Courriel : mica@inra.fr
www.inra.fr/mica/