



HAL
open science

Modélisation de l'impact d'un consortium microbien de fromages à pâte molle sur la croissance de *L. monocytogenes* et *E. coli* O157:H7

Catherine Denis, Aurélie Hanin, M. Lefevre, Mickaël Desvaux, Laurent Guillier

► To cite this version:

Catherine Denis, Aurélie Hanin, M. Lefevre, Mickaël Desvaux, Laurent Guillier. Modélisation de l'impact d'un consortium microbien de fromages à pâte molle sur la croissance de *L. monocytogenes* et *E. coli* O157:H7. Congrès de la Société Française de Microbiologie "Microbes", Sep 2021, Nantes, France. hal-03735764

HAL Id: hal-03735764

<https://hal.inrae.fr/hal-03735764>

Submitted on 31 Aug 2023

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.

Modélisation de l'impact d'un consortium microbien de fromages à pâte molle sur la croissance de *L. monocytogenes* et *E. coli* O157 :H7.

Catherine Denis ¹ (c.denis@actalia.eu), Aurélie Hanin ¹, Malvina Lefèvre ¹, Mickaël Desvaux ², Laurent Guillier ³

¹ ACTALIA, Saint Lô, France

² INRAE, UMR 454 MEDIS, Saint Genès Champanelle, France

³ Anses, Maisons-Alfort, France

Introduction et objectifs

Dans une matrice alimentaire, différents microenvironnements coexistent et se distinguent par leurs propriétés physico-chimiques et biochimiques et leurs communautés microbiennes endogènes. Cet environnement complexe impacte fortement le développement des bactéries pathogènes. Le projet ANR PathoFood cible la caractérisation de la croissance de *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* O157:H7 en présence d'un consortium microbien représentatif des fromages à pâte molle (bactéries lactique, d'affinage et levures) en vue d'en modéliser les effets.

Matériels et méthodes

La croissance d'une souche de *L. monocytogenes* (EGDe) et d'*E. coli* O157 :H7 (CM454) a été étudiée en culture pure et en co-culture avec un consortium microbien complexe représentatif des ferments utilisés en fabrication de fromages à pâte molle à croûte lavée ou fleurie, et en tenant compte de différents *ratio* de concentration initiale entre la bactérie pathogène et le consortium. La croissance a été étudiée dans des conditions de début d'affinage des fromages en milieu semi-gélosé à pH 5,5, avec 1% d'acide lactique et à 12°C.

Résultats, discussion, perspective

Les paramètres de croissance, taux de croissance, temps de latence et taux maximal atteint N_{\max} ont été déterminés. Les résultats montrent que la présence du consortium fromager module le N_{\max} pour les deux pathogènes étudiés traduisant une compétition microbienne liée à un effet Jameson. Le modèle développé sera validé sur fromage.

Ce travail est cofinancé par l'agence nationale de Recherche, Projet PATHOFOOD Décrypter l'hétérogénéité cellulaire et la distribution spatiale de pathogènes dans les matrices alimentaires en interaction avec les communautés microbiennes (ANR-17-CE21-0002), Coordinateur : M. Desvaux INRA MEDIS

Modélisation de l'impact d'un consortium microbien de fromages à pâte molle sur la croissance de *L. monocytogenes* et *E. coli* O157 : H7

Catherine Denis¹, Aurélie Hanin¹, Malvina Lefèvre¹, Mickaël Desvaux², Laurent Guillier³

(1) ACTALIA, Sécurité des aliments, Saint Lô, France.

(2) INRAE, UMR 454 Medis (Microbiologie, Environnement digestif, santé), Saint Genès Champanelle, France

(3) Anses, Maisons-Alfort, France

INTRODUCTION

Dans une matrice alimentaire, différents microenvironnements coexistent et se distinguent par leurs propriétés physico-chimiques et biochimiques et leurs communautés microbiennes endogènes. Cet environnement complexe impacte fortement le développement des bactéries pathogènes. Le projet ANR PathoFood cible la caractérisation de la croissance de *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* O157:H7 en présence d'un consortium microbien représentatif des fromages à pâte molle (bactéries lactique, d'affinage et levures) en vue d'en modéliser les effets.

METHODES

La croissance d'une souche de *L. monocytogenes* (EGDe) et d'*E. coli* O157:H7 (CM454) a été étudiée en culture pure et en co-culture avec un consortium microbien complexe représentatif des ferments utilisés en fabrication de fromages à pâte molle à croûte lavée ou fleurie, et en tenant compte de différents *ratio* de concentration initiale entre la bactérie pathogène et le consortium. La croissance a été étudiée dans des conditions de début d'affinage des fromages. L'ajustement des cinétiques de croissance (détermination du temps de latence, du taux de croissance μ_{max} et du taux maximal atteint N_{max}) a été réalisé à l'aide du logiciel Symprevius (www.symprevius.eu). Les scripts R ont été utilisés pour le modèle de compétition (<https://github.com/lguillier/predictive-microbiology>).

Composition du consortium fromager

<i>Lactococcus lactis</i>	Bactéries lactiques acidification (BL)
<i>Lactococcus cremoris</i>	
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Flore de levurage (LEV)
<i>Kluyveromyces lactis</i>	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	
<i>Staphylococcus xylosus</i>	Bactéries d'affinage (BA)
<i>Staphylococcus equorum</i>	
<i>Brevibacterium linens</i>	
<i>Arthrobacter arilaitensis</i>	

Plan d'expériences

Expérience	Pathogène	Consortium fromager
1	10/g	10 ⁴ /g
2	10/g	10 ⁶ /g
3	1000/g	10 ⁴ /g
4	1000/g	10 ⁶ /g

4 modalités

Consortium complet (BL + LEV + BA)
Bactéries lactiques uniquement (BL)
Levures uniquement (LEV)
Bactéries d'affinage (BA) uniquement

Conditions expérimentales

- Croissance en milieu semi-gélosé
- pH 5,5 (proche pH du fromage en blanc) / acide lactique 1% et ajustement du pH avec NaOH
- Température de conservation : 12°C (T° d'affinage)
- Numération des flores du consortium, de *L. monocytogenes* et *E. coli* tous les jours pendant 8 jours
- Suivi de l'évolution du pH

Modèle de compétition de type Jameson étendu

$$\begin{cases} t < t_{lag-Lm}, \frac{dLm}{dt} = 0 \\ t \geq t_{lag-Lm}, \frac{dLm}{dt} = \mu_{max}^{Lm} \times \left(1 - \frac{Lm_t}{Lm_{max}}\right) \times \left(1 - \frac{\gamma \times Cons_t}{Cons_{max}}\right) \\ t < t_{lag-Cons}, \frac{dCons}{dt} = 0 \\ t \geq t_{lag-Cons}, \frac{dCons}{dt} = \mu_{max}^{Cons} \times \left(1 - \frac{Cons_t}{Cons_{max}}\right) \times \left(1 - \frac{Lm_t}{Lm_{max}}\right) \end{cases}$$

RESULTATS

Pas d'impact significatif du consortium fromager sur le taux de croissance des deux pathogènes, *L. monocytogenes* EGDe et *E. coli* O157:H7 (CM 454) (Figures 1 & 2)

Impact du consortium fromager sur le taux maximal atteint pour les deux pathogènes, *L. monocytogenes* EGDe et *E. coli* O157:H7 (CM 454) (Figures 3 & 4)

Figure 1 : Impact d'un consortium microbien fromager (BL+LEV+BA) sur la croissance de *Listeria monocytogenes*

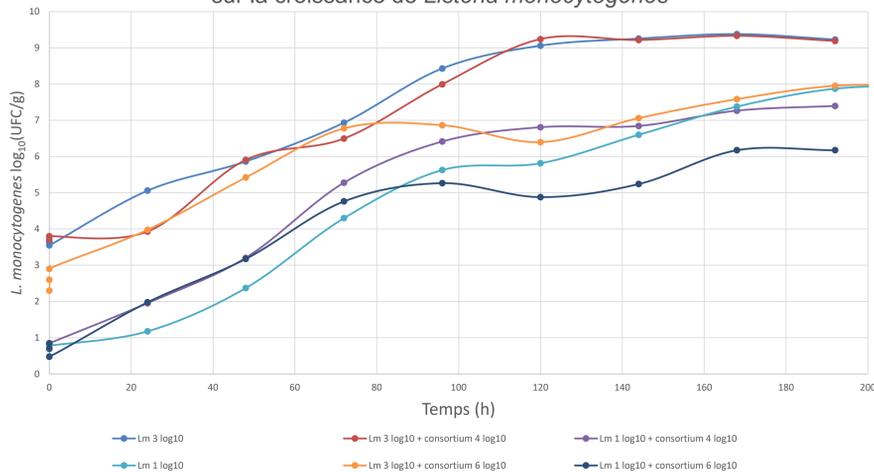


Figure 3 : Niveau maximal atteint (Nmax) par *L. monocytogenes*

Après 8 jours à 12°C en milieu semi-gélosé pH 5,5 en mono (bleu foncé) et co-culture (bleu clair)

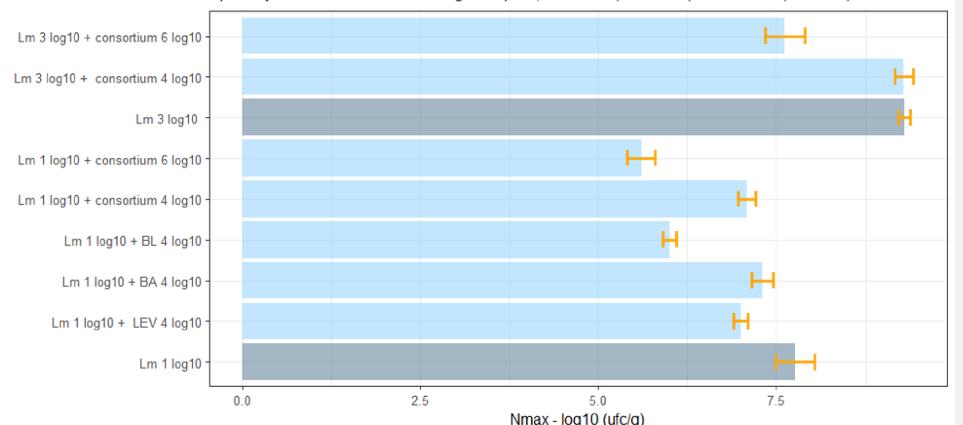


Figure 2 : Impact d'un consortium microbien fromager (BL+LEV+BA) sur la croissance d'*E. coli* O157:H7

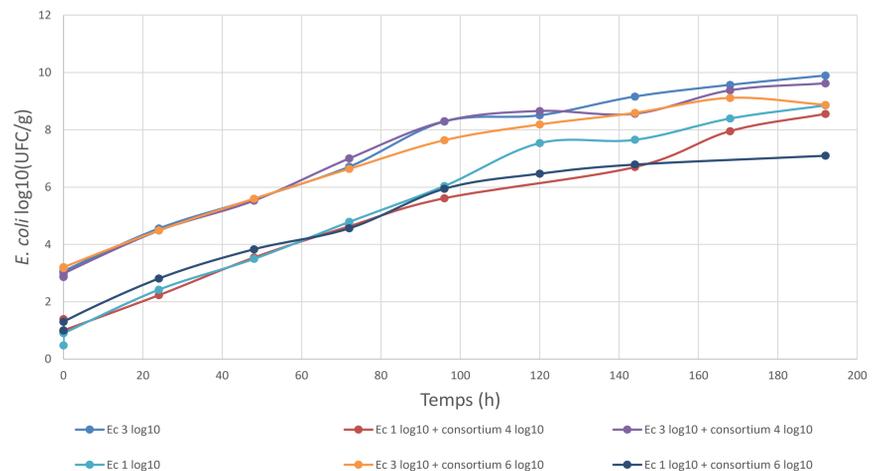
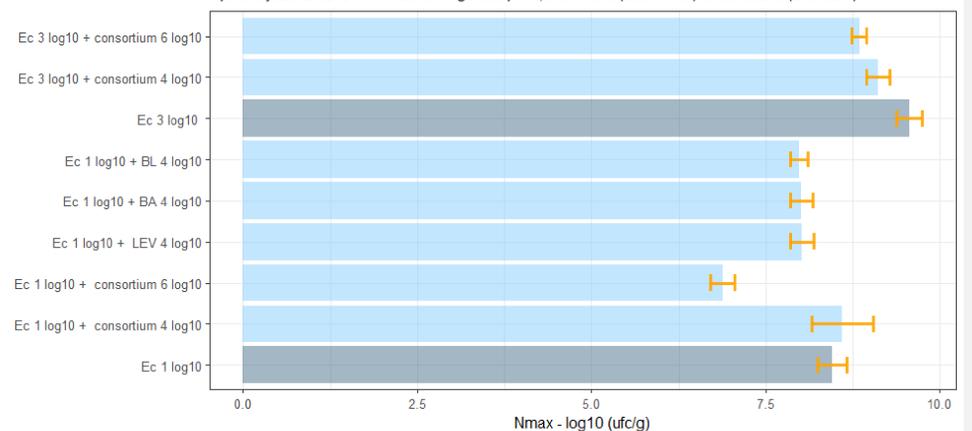


Figure 4 : Niveau maximal atteint (Nmax) par *E. coli* O157:H7

Après 8 jours à 12°C en milieu semi-gélosé pH 5,5 en mono (bleu foncé) et co-culture (bleu clair)



CONCLUSION

- Les paramètres de croissance, taux de croissance, temps de latence et taux maximal atteint N_{max} ont été déterminés pour *L. monocytogenes* EGDe et *E. coli* O157:H7 (CM 454) au cours de la croissance à 12°C en présence ou non de consortia fromagers (ferments lactiques et d'affinage).
- Les croissances en monoculture réalisées à différents inoculum démontrent un effet « géométrique » : N_{max} dépend de la taille de l'inoculum en milieu semi-gélosé.
- Les résultats d'ajustement du modèle primaire de compétition montrent que la présence des consortia fromagers module le N_{max} pour les deux pathogènes étudiés traduisant une compétition microbienne liée à un effet Jameson.
- Le modèle de compétition développé sera validé sur fromage dans le cadre d'essais pilote.

REMERCIEMENTS

Ce travail est cofinancé par l'agence nationale de Recherche, Projet PATHOFOOD Décrypter l'hétérogénéité cellulaire et la distribution spatiale de pathogènes dans les matrices alimentaires en interaction avec les communautés microbiennes (ANR-17-CE21-0002), Coordinateur : M. Desvaux INRA MEDIS