



HAL
open science

**Les Ressources microbiennes au service de nos aliments:
une richesse préservée et explorée dans le réseau CIRM.
La diversité fonctionnelle explorée grâce au criblage à
haut débit**

Florence Valence, Anne Thierry

► **To cite this version:**

Florence Valence, Anne Thierry. Les Ressources microbiennes au service de nos aliments: une richesse préservée et explorée dans le réseau CIRM. La diversité fonctionnelle explorée grâce au criblage à haut débit. Innovations Agronomiques, 2015, 44, pp.99-108. 10.15454/1.4622639464429463E12 . hal-01181051

HAL Id: hal-01181051

<https://hal.science/hal-01181051>

Submitted on 28 Feb 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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

Les Ressources microbiennes au service de nos aliments: une richesse préservée et explorée dans le réseau CIRM. La diversité fonctionnelle explorée grâce au criblage à haut débit

Valence F.^{1,2}, Thierry A.^{1,2}

¹ INRA, UMR1253 STLO, F-35042 Rennes

² Agrocampus Ouest UMR1253 STLO, F-35042 Rennes

Correspondance : Florence.Valence-bertel@rennes.inra.fr

Résumé

Première source de gènes de la planète, les microorganismes sont des acteurs majeurs des propriétés des aliments fermentés et de la bio-préservation des aliments, ils représentent une richesse à explorer et à préserver. Tous les métabolismes y sont représentés et leur biodiversité encore largement sous-explorée est une source clé d'innovation et de valeur ajoutée.

Une gestion appropriée de ces ressources est donc essentielle. C'est la mission des centres de ressources biologiques (CRB) qui acquièrent, caractérisent, conservent et distribuent ces ressources avec un standard de qualité élevé et une expertise en lien avec le type de ressources microbiennes hébergé. C'est pour répondre à ces impératifs que l'INRA a créé en 2005 le CIRM, Centre International de Ressources Microbiennes. Ces collections thématiques de l'INRA regroupent de nombreuses espèces microbiennes (bactéries, levures et champignons filamenteux). Elles se caractérisent par la possession d'un grand nombre de souches par espèce, un élément essentiel pour pouvoir explorer et exploiter la diversité fonctionnelle de ces microorganismes. Le criblage à haut débit permet pour les microorganismes impliqués dans les transformations alimentaires, sur un grand nombre de souches en parallèle, d'explorer la diversité fonctionnelle de ces derniers. Le choix de la méthodologie de criblage (approche ciblée ou non ciblée) en fonction des fonctionnalités étudiées ainsi que la connaissance des microorganismes à cribler et de l'écosystème dans lequel ils interviennent, sont des éléments clés pour garantir la pertinence et l'efficacité d'un criblage haut débit.

Mots-clés : Centre de Ressources Biologiques (CRB), biodiversité, criblage haut débit, aliments fermentés, fonctionnalités.

Abstract: Microbial Resources at the service of foods: a preserved and explored richness in CIRM network. Functional diversity explored by high throughput screening.

First source of genes on the planet, microorganisms are key elements of fermented foods and food bio-preservation, they represent a wealth to explore and preserve. All metabolisms are represented and microbial biodiversity still largely under-explored can be a source of innovation and added value. Proper management of these resources is essential. This mission is ensured by the Biological Resource Centers (BRC) that acquire, characterize, preserve and distribute these resources with a high standard of quality and expertise in relation to the type of hosted microbial resources. In this respect, INRA created the International Centre for Microbial Resources (CIRM) in 2005. These thematic collections include numerous microbial species (bacteria, yeasts and filamentous fungi). Their specificity is the possession of a large number of strains by species, essential to be able to explore and exploit the functional diversity of microorganisms. The high throughput screening allows, for the microorganisms involved in food processing, on a large number of strains in parallel, to explore their functional diversity. The choice of screening methods (targeted or non-targeted approach) depending on the studied

functionalities and on the knowledge of studied microorganisms to be screened, in the ecosystem in which they occur, are key elements to ensure relevance and efficiency of a high throughput screening.

Keywords: Biological Resources Center (BRC), biodiversity, High throughput screening, fermented food, functionalities.

1. Les centres de ressources biologiques, acteurs de la préservation et de la valorisation des ressources microbiennes

Les microorganismes représentent la première source de gènes de la planète. Ils interviennent dans un très grand nombre de processus biologiques et notamment dans la fabrication des aliments fermentés qui constituent près d'un tiers de notre diète. Les aliments fermentés existent depuis des millénaires et leur diversité, lorsque l'on considère la matière première, la technologie mise en œuvre, la flore microbienne associée et la typologie organoleptique est extrêmement large (Tamang et Kailasapathy, 2010). La préservation de la diversité des microorganismes impliquée dans la fermentation de ces produits est dès lors un enjeu de taille pour les centres de ressources biologiques (CRB) qui s'intéressent à ces flores.

Les CRB ont pour mission première de préserver la biodiversité, toutes ressources biologiques confondues. Ils sont essentiels à la maîtrise et à la préservation de la biodiversité et des ressources génétique de la planète. Ils jouent de ce fait un rôle de conservatoire avec une fonction patrimoniale et ont bénéficié en 2007 de prescriptions relatives à leur bon fonctionnement, éditées par l'OCDE (OCDE, 2007).

Une grande part de la biodiversité reste encore à explorer puisque selon Mora et al. (2011) près de 90 % de cette biodiversité n'a pas encore été décrite à ce jour. C'est d'autant plus vrai pour les microorganismes que les nouveaux outils d'exploration au niveau moléculaire permettent désormais d'accéder aux microorganismes non cultivables, ou présents à des niveaux de population très faibles, et qui n'étaient pas jusqu'alors pris en compte dans les estimations de la biodiversité microbienne mobilisable au sein des écosystèmes étudiés. On peut espérer qu'à terme une partie de cette diversité pourra rejoindre les CRB.

On observe depuis quelques décennies une diminution de la biodiversité, c'est vrai quelles que soient les ressources biologiques considérées, y compris les espèces microbiennes d'intérêt technologique impliquées dans la fabrication des aliments fermentés, telles que les bactéries lactiques. En effet, dans les pays industrialisés, l'évolution des pratiques en production agricole et notamment laitière a entraîné un appauvrissement, en nombre d'espèces mais aussi en nombre de souches pour une espèce donnée, de la flore des laits (Mallet et al., 2012). Dès lors il apparaît important de préserver cette diversité microbienne en grande partie responsable de la diversité et de la typicité des produits fermentés.

Au-delà de la préservation de la biodiversité, la seconde fonction des CRB est de donner l'accès aux ressources biologiques aux acteurs de la recherche académique et industrielle. Ce sont de ce fait des leviers pour la valorisation de ces ressources.

Les ressources biologiques, en plus de leur valeur intrinsèque, ont une valeur en lien avec leur potentiel d'innovation. Leur utilisation et leur valorisation doivent donc se faire dans un cadre légal et consensuel afin de favoriser leur utilisation à des fins de développement durable et pour un partage équitable des profits générés par ces dernières. Pour ce faire, une convention pour la biodiversité a été ratifiée par 168 pays, dont la France, à Rio en 1992 (www.cbd.int). Cette convention a été complétée en 2010 par un accord international, le protocole de Nagoya, entré en vigueur en octobre 2014

(www.cbd.int/abs/doc/protocol/nagoya-protocol-fr.pdf). Ce dernier garantit l'accès aux ressources génétiques et le partage juste et équitable des avantages découlant de leur utilisation.

C'est dans ce contexte qu'en 2004, le département Microbiologie et Chaîne alimentaire de l'INRA a décidé de créer un CRB dédié à la préservation et à l'exploration de la biodiversité microbienne : le Centre International de Ressources Microbiennes (CIRM). La mission du CIRM est de mieux organiser et valoriser le patrimoine génétique inestimable représenté par l'ensemble des collections INRA en l'ouvrant aux communautés scientifiques et industrielles ainsi qu'aux filières concernées. Il est constitué à ce jour de cinq CRB microbiens thématiques fonctionnant en réseau (www.inra.fr/crb-cirm). Il regroupe ainsi des collections de champignons filamenteux (CIRM-CF, INRA Marseille), de bactéries associées aux plantes (CIRM-CFBP, INRA Angers), de pathogènes de la chaîne alimentaire (CIRM-BP, INRA Tours), ou d'intérêt alimentaire (CIRMBIA, INRA Rennes), et de levures d'intérêt technologique (CIRM-Levures, INRA Grignon). Convaincu qu'une recherche de haut niveau ne peut se faire que sur un matériel biologique de grande qualité, avec une traçabilité irréprochable et l'assurance de disposer des données minimales associées aux souches, l'ensemble des cinq CIRM est certifié selon la norme ISO 9001:2008. C'est un outil collaboratif transversal à l'INRA qui met à disposition des chercheurs académiques et privés ses ressources biologiques (20 000 souches de bactéries, levures et champignons filamenteux) mais aussi son expertise associée et des outils dédiés à l'exploration de la biodiversité à haut débit. Il représente de ce fait un élément essentiel de l'infrastructure sur laquelle peuvent s'appuyer les biotechnologies. Le CIRM bénéficie d'une reconnaissance nationale et internationale en participant à plusieurs programmes de recherche ANR et européens et en tant que membre de réseaux tels que Biobanque, IBISA et la World Federation of Culture Collections (WFCC). Le CIRM a aussi été pilote d'un projet Européen d'infrastructure EMbaRC (2008-2012) pour structurer les collections à l'échelle européenne et participe aujourd'hui au programme européen MIRRI (preparatory phase of the Microbial Resource Research Infrastructure, ESFRI roadmap 2012-2015).

2. Prise en compte de la diversité infraspécifique au sein de collections thématiques

La diversité bactérienne intervient à plusieurs niveaux : diversité de genre et d'espèces mais aussi au sein de l'espèce, c'est la diversité infraspécifique. Les espèces sont décrites par rapport à une souche type qui sert de référence et qui doit être déposée dans au moins deux collections reconnues. Cependant, compte tenu de la diversité infraspécifique, la souche type d'une espèce donnée ne couvre pas à elle seule la totalité des potentialités de l'espèce. Il est donc important de pouvoir disposer *via* les CRB de plusieurs souches d'une espèce donnée lorsque l'on s'intéresse par exemple aux propriétés technologiques de cette dernière. Il faut noter que 79 % des espèces décrites en 2009 étaient basées uniquement sur la souche type (Stackebrandt, 2010). Cela souligne le manque de diversité infraspécifique au sein de collections classiques et reconnues internationalement telles que la collection allemande DSMZ (www.dsmz.de) ou néerlandaise CBS (<http://www.cbs.knaw.nl>).

Cette dimension infraspécifique est importante car bon nombre de propriétés microbiennes sont dépendantes des souches au sein d'une même espèce, et induisent des variations de fonctionnalités dans les produits fermentés. C'est le cas par exemple de la production d'acides gras volatils impliqués dans l'arôme du fromage par *Propionibacterium freudenreichii*, levain clé pour la fabrication des fromages comme l'emmental (Dherbécourt et al., 2008), (Figure 1A) ou de la capacité de souches de *Lactobacillus plantarum*, isolées de vin Pinot noir, à croître en fonction de la concentration en éthanol du milieu (Bravo-Ferrada et al., 2011), (Figure 1B). Comme l'illustre la Figure 1, on observe que selon les souches considérées la concentration en acide gras varie de 6 à plus de 50 mg/ml dans des cultures de *P. freudenreichii* en modèle simulant les conditions fromagères et que la population maximale atteinte par des souches de *L. plantarum* en présence d'éthanol peut varier de plus d'un log (10^8 vs 10^9 UFC ml⁻¹) entre les souches les plus extrêmes. La souche dépendance touche un très grand

nombre d'espèces et des fonctions très variées telles que la capacité des souches à produire des exopolysaccharides (EPS), à croître sur certains substrats carbonés, à résister à de fortes concentrations en sels, à produire des arômes, à avoir un potentiel en terme de bio-préservation ou probiotique, etc... (Chaillou et al., 2009 ; Ravyts et al. 2012 ; Cortes-Zavaleta et al., 2015). Elle est donc à prendre en considération lorsque l'on s'intéresse pour un microorganisme à une activité ou à une fonction donnée.

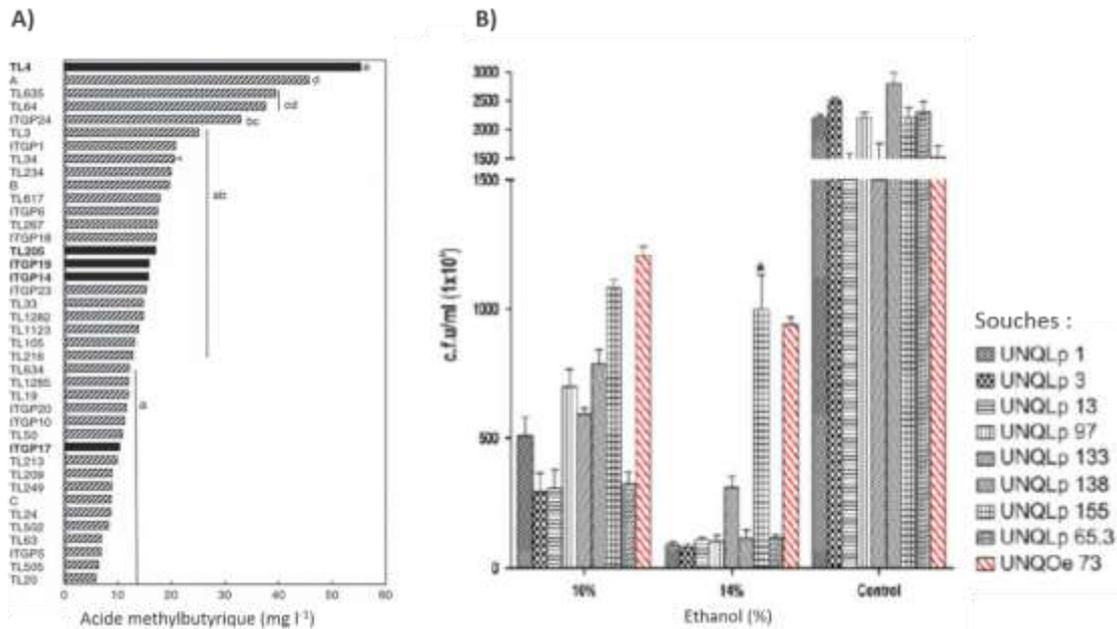


Figure 1: (A) Souche dépendance de la production d'un composé d'arôme de l'emmental (acide methylbutyrique) observée pour 24 souches de *P. freudenreichii* en modèle simulant les conditions fromagères. (B) Souche dépendance pour 9 souches de *L. plantarum* de la capacité à croître en présence respectivement de 10 et 14% d'éthanol.

Dès lors, il semble important de développer des collections thématiques basées sur les écosystèmes en complément de ces collections existantes centrées sur les espèces (Emerson et Wilson, 2009). C'est dans ce sens que les collections du CIRM ont été constituées puisqu'elles se distinguent des autres collections par le grand nombre de souches par espèce qu'elles hébergent, et ce pour des d'espèces en lien avec des fonctionnalités données.

Les souches qui constituent ces collections sont issues soient de collectes ciblées, soit de travaux de caractérisation d'écosystèmes/biotopes variés incluant entre autres des aliments fermentés traditionnels. A l'ère de l'avènement de la métagénomique pour décrire les écosystèmes rencontrés dans les aliments (Row et al., 2010 ; Jung et al., 2011), il n'est donc pas inutile de continuer à caractériser ces écosystèmes par des voies culturelles qui permettent d'isoler la diversité microbienne et d'enrichir les collections pour leur permettre d'accroître leur offre en terme de souches « disponibles ». Ces collections sont un atout majeur pour l'INRA en termes de ressources mobilisables pour explorer la diversité fonctionnelle par des approches de criblage à un haut débit.

3. Exploration de la diversité fonctionnelle des microorganismes par des méthodes de criblage haut débit

Longtemps réservées aux domaines de la pharmacologie pour identifier ou étudier des molécules aux propriétés nouvelles ou chimiquement actives, les méthodes de criblage haut débit trouvent aujourd'hui leur place dans les domaines de l'agronomie et de l'alimentation, entre autres pour la recherche de fonctionnalités d'intérêt en lien avec l'utilisation de ferments. La notion de haut débit sous-entend la possibilité d'automatiser la partie expérimentale pour pouvoir étudier un grand nombre d'échantillons en parallèle avec en général une miniaturisation du système (travail en plaque 26, 96 ou 384 puits) (Figure 2 d'après Inglin et al., 2015).

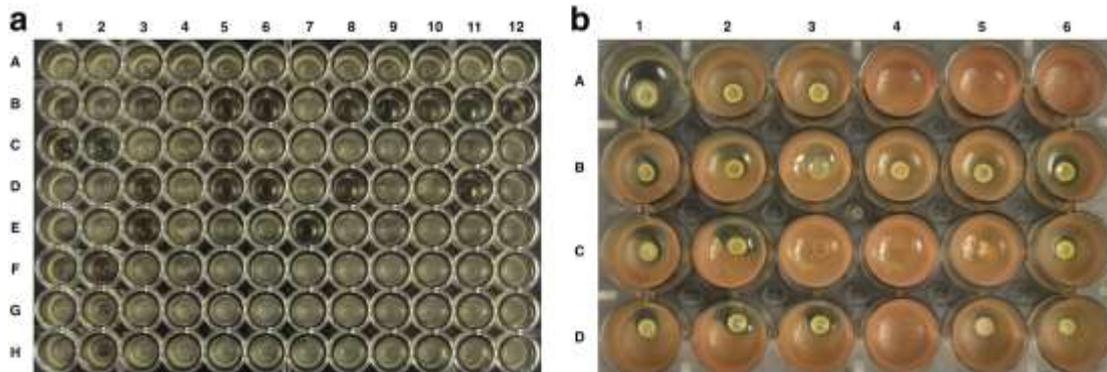


Figure 2 : Criblage haut débit de l'activité antibactérienne (a) et antifongique (b) respectivement en microplaque 96 puits et en plaque 24 puits pour 92 souches appartenant au genre *Lactobacillus*.

Les criblages haut débit peuvent couvrir une large étendue de propriétés technologiques d'intérêt comme par exemple, dans le cas des aliments fermentés, les propriétés antifongiques de bactéries lactiques (Inglin et al., 2015), les propriétés aromatisantes (Holland et al., 2005), les capacités à résister aux sels biliaires (Lan et al., 2007), les potentialités probiotiques (Bao et al., 2010), la capacité à produire des peptides antioxydants (Coda et al., 2012) ou encore la potentialité d'ingrédients à favoriser la croissance de bactéries d'intérêt alimentaire pour obtenir des aliments fonctionnels (Rosendale et al., 2008).

3.1 Approche de criblage ciblée ou non ciblée

Le type de fonction étudiée conditionne l'approche de criblage qui devra être mise en œuvre. Deux grandes approches peuvent être envisagées, l'approche ciblée et l'approche non ciblée (Figure 3). Ainsi, si pour un microorganisme donné, la fonction attendue repose sur l'expression d'un gène, d'une voie métabolique, l'activité d'une enzyme (production de bactériocine, de vitamines, activité lignocellulolytique, dégradation de sources de carbone spécifiques, ...), on aura recours à une approche dite ciblée qui, selon le cas, pourra évaluer la présence/absence d'un gène, le niveau d'un transcrit, l'activité d'une enzyme ou la production d'un métabolite. Le criblage reposera alors sur la mise en œuvre de méthodes de type moléculaire (PCR, séquençage de gènes ciblés, ...), d'approches en transcriptomique, de dosage d'activités enzymatiques ou de composés ciblés, voire, si les données sont accessibles et pertinentes pour le microorganisme considéré, d'analyses purement *in silico*, telles que l'exploitation de données de séquençage pour vérifier la présence/absence d'un gène donné ou la comparaison de séquences de gènes.

Prenons par exemple la synthèse du 3-méthylbutanal, un composé d'arôme issu du catabolisme de la leucine et associé à des notes maltées dans différents aliments fermentés comme le fromage et le pain. L'aptitude à produire ce composé est souche-dépendante chez les lactocoques (Morgan, 1967). Pour cribler à haut débit la production de ce composé au sein de cette espèce, une démarche a été

développée, en couplant des cultures en micro-plaques, une technique d'extraction des composés volatils et la quantification par spectrométrie de masse, sans séparation chromatographique préalable, d'un fragment d'ionisation (m/z) spécifique de ce composé. Par cette approche, une dizaine de souches productrices de 3-methylbutanal ont été mises en évidence parmi les 72 souches criblées (Smit et al., 2004).

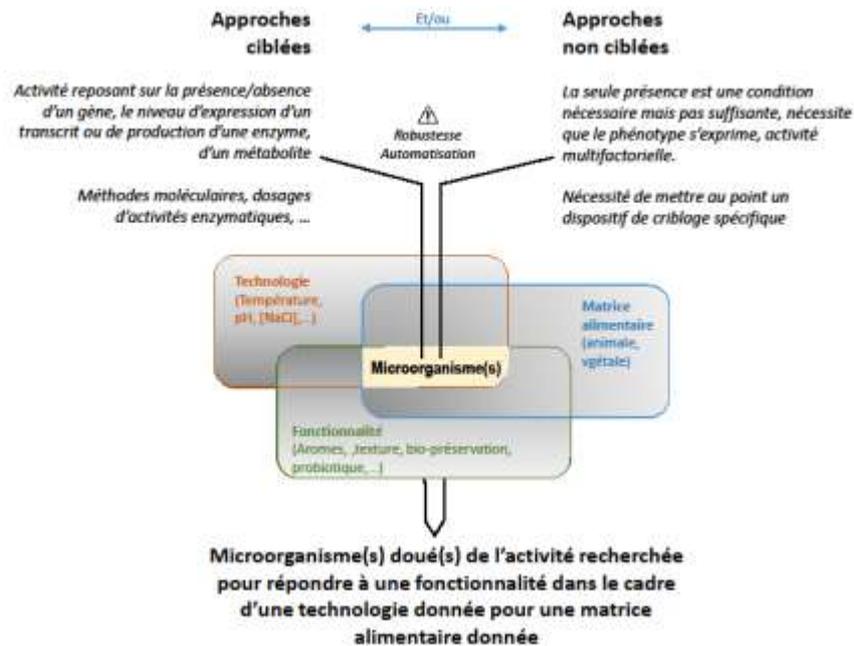


Figure 3 : Les approches ciblées et non ciblées de criblage haut débit, facteurs à prendre en considération pour définir l'approche de criblage à mettre en œuvre.

En revanche lorsque l'on s'intéresse à des fonctionnalités qui reposent sur des propriétés pour lesquelles on ne connaît pas les bases moléculaires et qui sont probablement multifactorielles (aptitude à se développer à basse température ou en présence de fortes concentrations en sel, aptitude à produire un effet sur la saveur ou la texture de produits alimentaires fermentés,...) on devra mettre en œuvre une approche de criblage dite non ciblée. Cette approche pourra nécessiter de développer, dans certains cas, un dispositif spécifique et devra permettre au phénotype du microorganisme étudié de s'exprimer dans des conditions pertinentes. C'est le cas par exemple de l'étude du potentiel antifongique ou aromatisant de bactéries lactiques ou de leur capacité à être utilisées en tant que levains pour la fabrication d'aliments fermentés. Bachmann et al. (2009), pour cribler le potentiel de souches bactériennes à être utilisées en tant que levain d'affinage pour la fabrication de fromages tels que le cheddar et le gouda, ont développé une méthode de criblage spécifique haut débit qui permet de fabriquer en parallèle 600 micro-fromages de 170 mg. Ces micro-fromages présentent des propriétés (cinétique d'acidification, de protéolyse, de profils aromatiques, texture) très proches de celles obtenues dans les fromages en grandeur réelle. La miniaturisation du système, outre le fait de permettre de travailler sur un grand nombre de souches en parallèle, permet de faire une économie conséquente en termes de matière première mise en œuvre. Elle offre ainsi la possibilité d'avoir une approche plus systématique pour investiguer la biochimie et la microbiologie de l'affinage, dans le cadre ici de fromages à pâte pressée.

3.2 Robustesse du criblage

Que l'approche soit ciblée ou non ciblée, le criblage doit répondre à des critères de robustesse et d'automatisation s'il veut prétendre à la qualification de haut débit. La mise en œuvre d'un criblage pertinent devra tirer parti de toutes les connaissances disponibles concernant le microorganisme et sa contribution aux fonctionnalités attendues dans l'écosystème dans lequel il intervient. Ainsi par exemple si on s'intéresse au potentiel antifongique de bactéries lactiques, le choix du milieu de criblage est crucial. Si les souches sont cultivées sur leur milieu de laboratoire usuel (le MRS dans le cas des lactobacilles) qui contient de l'acétate, composé dont on a montré qu'il pouvait avoir une activité antifongique intrinsèque, le criblage a de forts risques d'être biaisé (Stiles et al., 2002). Un autre exemple concerne la contribution des microorganismes à produire des composés d'arôme ; il permet de souligner la multiplicité des facteurs à prendre en considération pour réaliser un criblage pertinent. Pour aller au-delà de simples corrélations entre présence d'une espèce ou d'une souche et l'empreinte aromatique perçue, il est essentiel d'élucider quelles sont les molécules odorantes clés impliquées dans la flaveur et quelles sont les voies de synthèse correspondantes. Les facteurs qui limitent la production des molécules ciblées peuvent relever de l'accessibilité des enzymes aux substrats, ou bien de l'intensité ou de la spécificité de l'activité enzymatique, ou encore être dus à une limitation par des substrats ou co-substrats impliqués dans ces réactions de synthèse, ainsi que l'illustrent les quelques exemples qui suivent.

La lipolyse génère des acides gras libres issus de l'hydrolyse des triglycérides laitiers, importants dans l'équilibre de la flaveur de la plupart des fromages. Le substrat ne pénètre pas dans les cellules microbiennes et ne sera hydrolysé que par des enzymes extracellulaires ou éventuellement par des enzymes intracellulaires libérées dans l'aliment suite à la lyse des bactéries. En conséquence, selon les connaissances sur les micro-organismes à tester, la démarche de criblage pourra mettre en œuvre des cellules entières, des extraits cellulaires, ou bien les deux. De façon analogue, la lyse des bactéries lactiques dans le fromage accélère le phénomène de protéolyse au cours de l'affinage du fromage, en facilitant l'accès des peptidases intracellulaires aux protéines de la matrice, et réduit ainsi l'amertume associée à certaines fractions de grands peptides. L'aptitude à se lyser dans les conditions du fromage est donc vraisemblablement aussi, voire plus importante, que l'activité aminopeptidasique pour évaluer l'activité « désamérisante » des souches. Plusieurs facteurs sont susceptibles d'induire la lyse des bactéries lactiques dans le fromage (carence en substrat carboné, stress thermique ou osmotique...) (Lortal et al., 2005). Il n'est donc pas étonnant d'observer des contradictions entre les résultats de tests de criblage de lyse *in vitro* et phénomène de lyse réellement observé dans le fromage. Concernant le criblage d'activités enzymatiques, l'activité peut être évaluée en utilisant des substrats chromogènes facilitant l'automatisation du suivi. Là encore, le choix du substrat peut avoir des conséquences majeures sur les résultats. Par exemple, l'observation d'une activité estérasique sur un substrat soluble ne présage pas de l'activité d'hydrolyse des triglycérides laitiers dans le fromage. De même, pour évaluer l'activité de synthèse des esters, qui sont des composés d'arôme présents dans de nombreux produits fermentés et associés à des notes fruitées, il est nécessaire de prendre en compte l'ensemble des réactions possibles de synthèse. Les plus plausibles dans le fromage sont l'estérification, mettant en œuvre un acide et un alcool, ou l'alcoololyse entre un ester et un alcool (Holland et al., 2005). Ces deux types de réactions ont été mis en évidence chez les bactéries lactiques et varient selon l'espèce et la souche (Abeijón Mukdsi et al., 2009).

3.3 Criblage en culture pure ou mixte et nombre de souches à tester

Les exemples ci-dessus soulignent l'importance du choix de la méthodologie de criblage mise en œuvre sachant, qui plus est, que l'expression de propriétés spécifiques, notamment dans les écosystèmes alimentaires, dépend à la fois de facteurs biotiques et abiotiques. Les approches de criblages nécessitent de choisir les souches de microorganismes en fonction de leur aptitude à moduler les propriétés attendues d'un produit. Le criblage peut se faire soit en cultures pures soit en co-cultures ou en cultures mixtes en associant les microorganismes à cribler à d'autres espèces de l'écosystème, en

milieu de laboratoire ou dans un milieu proche de la matrice alimentaire dans lequel ils interviennent. Dans le deuxième cas, les interactions avec les autres microorganismes devront être prises en compte. De manière à satisfaire le critère de haut-débit, de nombreux criblages s'effectuent en milieu de laboratoire et en culture pure ce qui pose la question de la représentativité des résultats.

Enfin, lorsqu'une fonctionnalité microbienne est recherchée se pose la question du nombre de souches à tester. Dans un criblage d'activité antifongique menée sur 1200 bactéries lactiques isolées de différents biotopes (environnement, animaux et végétaux), seulement 4 % des souches criblées ont montré une activité antifongique notable contre la cible fongique *Aspergillus fumigatus* testée (Magnusson et al., 2003). Dans un criblage sur la capacité de souches isolées de lait et de céréales à produire des exopolysaccharides, sur 174 souches testées, 10 souches produisaient des exopolysaccharides dans le milieu de culture utilisé, soit moins de 6% des souches testées (van der Meulen et al., 2007). La méthode de criblage mise au point par Inglin et al. (2015) a permis d'identifier parmi 504 souches de bactéries lactiques, 65 souches actives (soit 13%) contre l'espèce *Enterococcus*. Ces exemples soulignent la nécessité de cribler un grand nombre de souches pour pouvoir trouver une souche d'intérêt vis-à-vis d'une fonctionnalité donnée. Cependant plus le criblage se rapprochera des conditions réelles de l'expression des fonctionnalités du microorganisme, plus on peut espérer trouver des souches d'intérêt au sein d'un pool de "raisonnable" souches.

Ces exemples soulignent l'importance d'appréhender le système (microorganisme et milieu avec lequel il interagit) dans sa globalité pour trouver un juste équilibre entre haut-débit (nombre de souches qu'il est nécessaire de cribler) et pertinence du criblage.

Conclusion

D'une manière générale et indépendamment du type d'aliment fermenté considéré (pain, vin, fromage, produits de salaisonnerie,...), les prérequis pour un criblage haut débit pertinent sont les mêmes, à savoir prendre en compte la technologie, la nature de la matière première et de la communauté microbienne auquel le microorganisme criblé sera associé. Les consommateurs sont de plus en plus attentifs aux propriétés nutritionnelles et à la valeur santé des aliments qu'ils consomment, tout en restant très attachés à la valeur plaisir, c'est-à-dire aux propriétés sensorielles des aliments qu'ils consomment. De ce fait, les critères de sélection de levains pour la fabrication d'aliments fermentés ou à des fins de biopréservation tourneront principalement autour de trois axes de criblage : technologique, sensoriel et nutritionnel. Le criblage de levain d'intérêt sera donc basé sur la sélection de souches pour certaines fonctions clés en considérant notamment des propriétés telles que l'acidification, la capacité de résister à des conditions extrêmes (pH, sels, alcool, température,...), la protéolyse, la synthèse de composés d'arôme, la production de composés d'intérêt (composés antimicrobiens, vitamines, peptides bio-actifs, ...).

Quel que soit l'axe du criblage considéré, la disponibilité en diversité infraspécifique reste le goulot d'étranglement de sa réussite. Cette disponibilité repose sur la pérennisation et l'enrichissement de collections thématiques. Il est important que ces collections soient ouvertes au plus grand nombre pour permettre la diffusion des souches à des fins de recherche. Rendre les souches accessibles, c'est enrichir ces collections en connaissances associées aux souches ce qui en augmente la valeur intrinsèque. Il est également important que ces collections soient adossées à une expertise et qu'elles disposent d'outils de criblage pour explorer la biodiversité hébergée. C'est dans cette optique que le centre de ressources biologiques CIRMA a été créé par l'INRA.

Références bibliographiques

Abeijon Mukdsi M.C., Medina R.B., Alvarez M.D., Gonzalez S.N., 2009. Ester Synthesis by Lactic Acid Bacteria Isolated from Goat's and Ewe's Milk and Cheeses. Food Chem. 117 (2), 241–247.

- Bachmann H., Kruijswijk Z., Molenaar D., Kleerebezem M., van Hylckama Vlieg J.E.T., 2009. A high-throughput cheese manufacturing model for effective cheese starter culture screening. *J. Dairy Sci.* 92, 5868–5882
- Bao Y., Zhang Y., Liu Y., Dong X., Wang Y., Zhang H., 2010. Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Control* 21, 695-701.
- Bravo-Ferrada B.M., Hollmann A., Delfederico L., La Hens D.V., Caballero A., Semorile L., 2013. Patagonian red wines: selection of *Lactobacillus plantarum* isolates as potential starter cultures for malolactic fermentation. *World J Microbiol Biotechnol* 29, 1537–1549
- Chaillou S., Daty M., Baraige F., Dudez A-M., Anglade P., Jones R., Alpert C-A., Champomier-Vergès M-C., Zagorec M., 2009. Intra-species genomic diversity and natural population structure of the meat-borne lactic acid bacterium *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 970-980.
- Coda R., Rizzello C.G., Pinto D., Marco Gobbetti M., 2012. Selected lactic acid bacteria synthesize antioxidant peptides during sourdough fermentation of cereal flours. *Applied and Environmental Microbiology* 1087–1096.
- Cortés-Zavaleta O., López-Malo A., Hernández-Mendoza A., García H.S., 2014. Antifungal activity of lactobacilli and its relationship with 3-phenyllactic acid production. *International Journal of Food Microbiology* 173:30–35
- Dherbécourt J., Maillard M.B., Catheline D., Thierry A., 2008. Production of branched-chain aroma compounds by *Propionibacterium freudenreichii*: links with the biosynthesis of membrane fatty acids. *J Appl Microbiol* 105:977–985.
- Emerson D., Wilson W., 2009. Giving microbial diversity a home. *Nature Reviews Microbiology* 7:758
- Holland R., Liu S.Q.; Crow V.L., Delabre M.L., Lubbers M., Bennet M., Norris G., 2005. Esterases of Lactic Acid Bacteria and Cheese Flavour: Milk Fat Hydrolysis, Alcoholysis and Esterification. *Int. Dairy Journal* 15 (6-9), 711–718.
- Inglin R.C., Stevens M., Meile L., Lacroix C., Meile L., 2015. High-throughput screening assay for antibacterial and antifungal activities of *Lactobacillus* species. *J. Microbiol. Methods*, in press
- Jung Y., Lee H., Kim J., Park M., Bae J-W., Hahn Y., Madsen E., Jeon C., 2011. Metagenomic Analysis of Kimchi, a Traditional Korean Fermented Food. *Applied and Environmental Microbiology* 77(7), 2264–2274
- Lan A., Bruneau A., Philippe C., Rochet V., Rouault A., Herve C., Roland N., Rabot S., Jan G., 2007. Survival and metabolic activity of selected strains of *Propionibacterium freudenreichii* in the gastrointestinal tract of human microbiota-associated rats. *British Journal of Nutrition*, 97, 714–724
- Lortal S., Chapot-Chartier M.P., 2005. Role, Mechanisms and Control of Lactic Acid Bacteria Lysis in Cheese. *Int. Dairy Journal* 15 (6/9), 857–871.
- Mallet A., Guéguen M., Kauffmann F., Chesneau C., Sesboué A., Desmasures N., 2012. Quantitative and qualitative microbial analysis of raw milk reveals substantial diversity influenced by herd management practices. *Int. Dairy Journal* 27, 13-21.
- Magnusson J., Katrin Strom K., Roos S., Jorgen Sjogren J., Schnurer J., 2003. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 219, 129-135
- Mora C., Tittensor D.-P., Adl S., Simpson G.B., Worm B., Mace G.M., 2011. How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *PLoS Biology* 9 (8), 1-8
- Morgan M.E., 1976. The Chemistry of Some Microbially Induced Flavor Defects in Milk and Dairy Foods. *Biotechnol.Bioeng.* 18, 953–965.
- OCDE, 2007. Lignes directrices de l'OCDE relatives aux pratiques exemplaires concernant les centres de ressources biologiques. <http://www.oecd.org/fr/sti/biotech/3877744>
- Ravyts F., De Vuyst L., Leroy F., 2012. Bacterial diversity and functionalities in food fermentations. *English Life Science* 12, 356-367.

- Rosendale D., Maddox I.S., Miles M.C., Rodier M., Skinner M., Sutherland J., 2008. High-throughput microbial bioassays to screen potential New Zealand functional food ingredients intended to manage the growth of probiotic and pathogenic gut bacteria. *International Journal of Food Science and Technology* 43, 2257–2267
- Roh S.W., Kim K.-H., Nam Y.-D., Chang H.-W., Park E.J., Bae J.-W., 2010. Investigation of archaeal and bacterial diversity in fermented seafood using barcoded pyrosequencing. *ISME Journal* 4(1), 1-16
- Smit B.A., Engels W.J.M., Bruinsma J., Vlieg J.E.T.V., Wouters J.T.M., Smit G., 2004. Development of a High Throughput Screening Method to Test Flavour-Forming Capabilities of Anaerobic Micro-Organisms. *J. Appl. Microbiol.* 97 (2), 306–313
- Stackbrandt E., 2011. Towards a strategy to enhance access to microbial diversity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 61 (3): 479-481
- Stiles J., Penkar S., Plockova N., Chumchalova J., Bullerman L.B., 2002. Antifungal activity of sodium acetate and *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Food Protection* 65 (7), 1188-1191
- Tamang J.P., Kailasapathy K., 2010. Fermented foods and beverages of the world. Eds : Jyoti Prakash Tamang et Kasipathy Kailasapathy.
- Thierry A., Richoux R., Kerjean J.R., Lortal S., 2004. A Simple Screening Method for Isovaleric Acid Production by *Propionibacterium freudenreichii* in Swiss Cheese. *Int. Dairy Journal*, 14 (8), 697–700.
- Van der Meulen R., Grosu-Tudor S., Mozzi F., Vaningelgem F., Zamfir M., Font de Valdez G., De Vuyst L., 2007. Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved. *International Journal of Food Microbiology* 118, 250–258

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « *Innovations Agronomiques* », la date de sa publication, et son URL)