

Durand L., Planchon S., Guinebretière M.H., André S., Carlin F., Remize F. (2013)
 « Caractérisation de la diversité génétique de *Moorella* et *Geobacillus* par M13-PCR »
 (Poster). 9^{ème} congrès national de la Société Française de Microbiologie, Lille, 7 et 8 février.

Caractérisation de la diversité génétique de *Moorella* et *Geobacillus* par M13-PCR

Loïc DURAND¹, Stella PLANCHON², Marie-Hélène GUINEBRETIERE³,
 Stéphane ANDRE², Frédéric CARLIN³, Fabienne REMIZE⁴

¹CTCPA – INRA, CTCPA - Site Agroparc - ZA de l'Aéroport, BP 21203 - 84911 AVIGNON cedex 9, France

²UMTQualiveg, CTCPA, Avignon, France

³UMR408, Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, INRA, France

⁴LCSNSA, Université de La Réunion, Sainte Clotilde, France

Moorella thermoacetica/thermoautotrophica et *Geobacillus stearothermophilus* sont deux bactéries thermophiles formant des spores. Ces deux espèces sont responsables de 75% des altérations de conserves après incubation prolongée à 55°C (NF V08-401). Les spores hautement thermorésistantes qu'elles forment peuvent notamment résister au processus d'appertisation. Elles sont très largement retrouvées dans l'environnement et par conséquent contaminent les lignes de transformation de légumes.

Compte tenu de leur caractère non pathogène, peu d'études ont été menées sur la variabilité génétique et phénotypique au sein de chaque espèce. Ces informations sont nécessaires pour mieux comprendre leur écologie et ainsi définir une stratégie adéquate pour assurer la stabilité des conserves.

Ce travail avait pour objectif de déterminer la diversité intra-espèces par typage moléculaire. La méthode de M13-PCR a été choisie et appliquée pour le typage des deux espèces. Un total de 130 et 88 isolats de *G. stearothermophilus* et *M. thermoacetica/thermoautotrophica* respectivement a été utilisé. Ces isolats proviennent de conserves non stables à 55°C analysées sur une période de 10 ans. Cinq souches de collection (DSMZ) ont été rajoutées à l'étude. L'ensemble des isolats a été classé en fonction du profil électrophorétique, obtenu après amplification de la séquence du coliphage M13 et analyse du profil avec le logiciel BioGene (Bio Profil, V99.04).

Nos résultats ont montré une importante diversité intra-espèce avec cette méthode. Pour chacune des deux espèces, 19 groupes ont été obtenus en prenant un seuil de similarité à 77% et un intervalle de confiance à 4%. Dans ces conditions, 87% des isolats de *G. stearothermophilus* et 84% des isolats de *M. thermoacetica/thermoautotrophica* appartenaient respectivement à 10 et 7 groupes majoritaires. Au sein de chaque groupe et entre les groupes, aucune corrélation n'a pu être établie entre les souches et la nature du produit alimentaire, le lieu de fabrication de la conserve ou encore l'année d'isolement. Le phénotypage d'un isolat de chaque groupe génétique est en cours dans le but d'estimer la variabilité de propriétés physiologiques comme la température et le pH de croissance, la sporulation et les propriétés des spores (thermorésistance et germination).

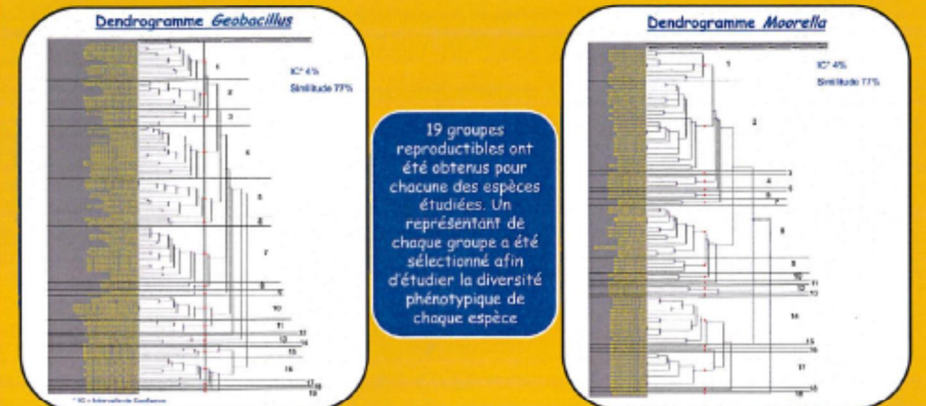
Mots clés : *G. stearothermophilus*, *M. thermoacetica/thermoautotrophica*, conserves, M13 PCR, diversité

ctcpa

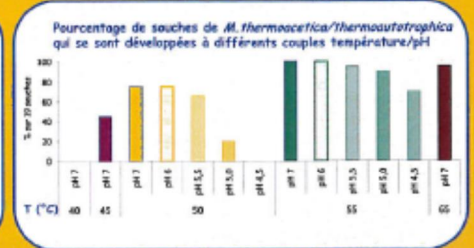
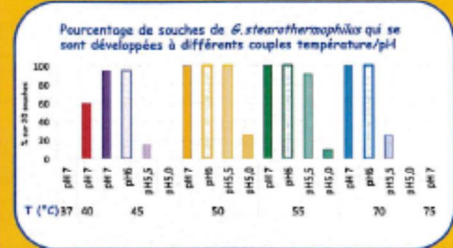
Caractérisation de la diversité génétique de *Moorella* et *Geobacillus* par M13-PCR

Loïc DURAND¹, Stella PLANCHON², Marie-Hélène GUINEBRETIERE³, Stéphane ANDRE², Frédéric CARLIN³, Fabienne REMIZE⁴
¹CTCPA - Site Agroparc, ZA de l'aéroport - BP21203, 84911 Avignon Cedex 9, France |durand@ctcpa.org
²UMTQualiveg, CTCPA, Avignon, France
³UMR408, Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, INRA, France
⁴LCSNSA, Université de La Réunion, Sainte Clotilde, France

Les bactéries thermophiles sont reconnues comme la cause majeure des non-stabilités des conserves. Le duo constitué du germe anaérobie strict *Moorella thermoacetica/thermoautotrophica* et du germe aéro-anaérobie facultatif *Geobacillus stearothermophilus* représente plus de 67% des cas de non-stabilité à 55°C. Afin d'estimer la variabilité génétique des populations isolées de conserverie, la méthode de typage M13-PCR a été adaptée avec les isolats de *M. thermoacetica/thermoautotrophica* et *G. stearothermophilus* issus des non-stabilités à 55°C. Le typage des 250 isolats de la collection du CTCPA et la détermination des groupes génétiques avaient pour objectif de choisir des souches en vue de la caractérisation de la diversité physiologique au sein des deux espèces.



19 groupes reproductibles ont été obtenus pour chacune des espèces étudiées. Un représentant de chaque groupe a été sélectionné afin d'étudier la diversité phénotypique de chaque espèce.



Cette étude s'est focalisée sur la caractérisation phénotypique de souches de *G. stearothermophilus* et *M. thermoacetica/thermoautotrophica* choisies par analyse de la diversité génétique des isolats de la collection du CTCPA à l'aide de la méthode de typage moléculaire M13-PCR. Les résultats montrent une homogénéité des conditions de croissance des souches excepté à pH 5 pour *G. stearothermophilus* et à 50°C pour *M. thermoacetica/thermoautotrophica*. D'autres caractères phénotypiques sont étudiés (T°C, pH, croissance en présence de NaCl, sporulation et résistance thermique des spores) afin de confirmer la faible diversité phénotypique parmi les souches ayant résisté aux barèmes d'appertisation.