

FICHE DE RECUEIL DES FAITS MARQUANTS DES DEPARTEMENTS/CENTRES

Année concernée : 2020 (Publication ou réalisation de 2020)

Fiche envoyée par : *Transform/Versailles-Grignon*

Priorité attribuée au FM (à renseigner par le CD/PC) :

Titre du fait marquant : **Obtenir l'identité biochimique de bactéries lactiques vivantes dans leur environnement aqueux par spectroscopie infrarouge**

Catégorie: Développement de deux dispositifs expérimentaux originaux en partenariat avec le synchrotron SOLEIL (ligne de lumière SMIS)

Publication : Meneghel, J., Passot, S., Jamme, F., Lefrançois, S., Lieben, P., Dumas, P., Fonseca, F. FTIR micro-spectroscopy using synchrotron-based and thermal source-based radiation for probing live bacteria. *Anal Bioanal Chem* (2020), (<https://doi.org/10.1007/s00216-020-02835-x>)

Contact : **Fernanda Fonseca (fernanda.fonseca@inrae.fr) et Stéphanie Passot (stephanie.passot@inrae.fr)**

Unité :UMR SayFood

Département : Transform

Centre INRAE : Versailles-Grignon

Méta-programme (si adapté):

Thème principal (cf. classification proposée en annexe) : A2 Partenariat

Thème complémentaire éventuel :

Metaprogramme (si adapté) :

Mots-clés (rubrique libre) : Bactéries lactiques, congélation, FTIR micro-spectroscopie, Environnement aqueux, hétérogénéité de la population

Résumé (10 à 15 lignes max. à rédiger sous une forme exportable dans le Rapport Annuel.)

Comment identifier des marqueurs cellulaires de résistance des bactéries lactiques à différents stress environnementaux ? En obtenant l'identité biochimique en milieu aqueux par spectroscopie infrarouge de bactéries lactiques vivantes. En collaboration avec les chercheurs du synchrotron SOLEIL, une équipe de l'UMR SayFood a développé deux dispositifs expérimentaux originaux pour acquérir le spectre infrarouge d'une ou de plusieurs cellules bactériennes, l'un couplé à la source de lumière synchrotron et l'autre associé à un microscope infrarouge de laboratoire.

Les résultats obtenus ont permis de valider l'outil de laboratoire pour explorer l'hétérogénéité d'une population bactérienne et les leviers d'action pour améliorer les procédés de production et de préservation des bactéries lactiques.

(400 à 500 mots/ 2700 à 3400 caractères max. pour l'ensemble des 4 rubriques ci-dessous)

Contexte et enjeux :

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) un outil puissant et non invasif pour obtenir l'identité biochimique de cellules

Des travaux précédents nous ont permis d'étudier la composition biochimique de cellules uniques de bactéries lactiques déshydratées sur un hémisphère en ZnSe grâce au rayonnement infrarouge du synchrotron SOLEIL [1]. Mais acquérir le spectre infrarouge d'une cellule bactérienne vivante dans son environnement aqueux reste un réel défi en raison de la forte perturbation du signal infrarouge par la présence d'eau, notamment dans la zone caractéristique des protéines.

Deux nouveaux dispositifs expérimentaux pour étudier, à différentes résolutions spatiales, des bactéries lactiques vivantes et

Un microscope infrarouge inversé, associant un matériau à fort indice de réfraction et le rayonnement synchrotron de la ligne SMIS du synchrotron SOLEIL a été construit sur mesure. Ce dispositif permet d'atteindre une résolution spatiale de l'ordre d'une cellule bactérienne (1µm x 1µm). Le second dispositif est

constitué d'un porte-échantillon démontable incluant une micro-chambre, adapté à un microscope infrarouge de laboratoire pour caractériser des groupes de quelques milliers de cellules vivantes. Deux populations d'une bactérie lactique, *Lactobacillus bulgaricus*, largement utilisée pour la fabrication d'aliments fermentés, et présentant différents degrés de cryo-résistance, ont été analysées. Les spectres infrarouges obtenus ont été traités avec un algorithme spécialement développé pour éliminer la contribution spectrale de l'eau. Des marqueurs potentiels de résistance au procédé de congélation ont été identifiés au sein de la structure secondaire des protéines et des composants de l'enveloppe cellulaire. Par ailleurs, la comparaison des résultats obtenus a mis en évidence la possibilité d'avoir accès à des informations sur l'hétérogénéité d'une population bactérienne grâce au dispositif de laboratoire.

.... Identifier des marqueurs cellulaires de résistance aux stress environnementaux et comprendre les dommages cellulaires induits par les procédés de préservation des bactéries

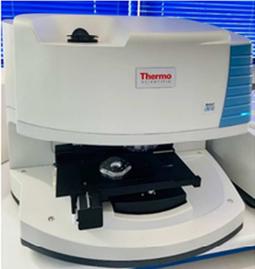
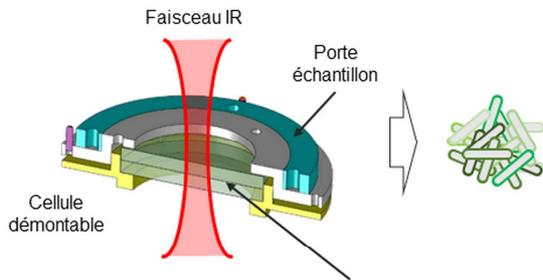
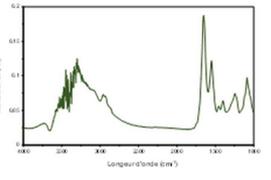
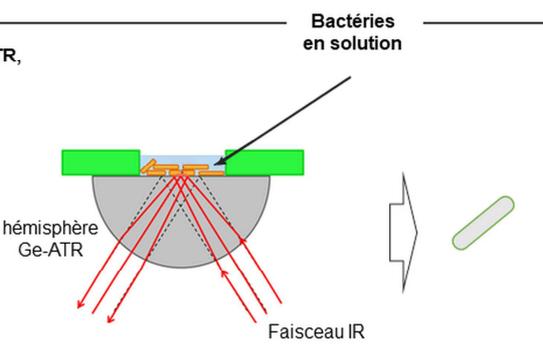
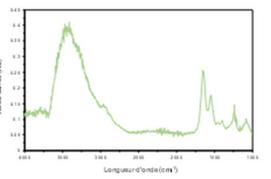
Aujourd'hui, le microscope infrarouge de laboratoire associé au porte échantillon est utilisé dans le cadre du projet européen MSCA-RISE PREMIUM (n°777657) pour identifier des marqueurs cellulaires de résistance d'autres bactéries à d'autres procédés de préservation comme la déshydratation. Ce dispositif permet également de comprendre les dommages cellulaires associés à différents procédés.

Valorisation : Meneghel J., Passot S., Jamme F., Lefrançois S., Lieben P., Dumas P., Fonseca F., FTIR micro-spectroscopy using synchrotron-based and thermal source-based radiation for probing live bacteria. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 24 Aug 2020, 412(26):7049-7061

Références bibliographiques :

[1] S. Passot, J. Gautier, F. Jamme, S. Cenard, P. Dumas, F. Fonseca (2015) Understanding the cryotolerance of lactic acid bacteria using combined synchrotron infrared and fluorescence microscopies. *Analyst* 140: 5920

Illustration (photos au format jpg, avec légende, auteur de la photo, et copyright s'il y en a un)

<p>Microscope IR, en mode transmission, doté d'une source thermique</p>  <p>A</p>		<p>Information biochimique de quelques milliers de cellules bactériennes vivantes</p> 
<p>Microscope IR inversé, en mode ATR, couplé à la source synchrotron</p>  <p>B</p>	<p>Bactéries en solution</p> 	<p>Information biochimique d'une cellule bactérienne vivante</p> 

(A) Image du microscope infrarouge (IR) et représentation schématique de la cellule démontable, utilisés pour obtenir les spectres IR en mode transmission et permettre la caractérisation biochimique de quelques milliers de cellules bactériennes dans leur environnement aqueux.

(B) Image du microscope inversé construit sur mesure, couplé avec le rayonnement IR du synchrotron qui traverse l'hémisphère de germanium (Ge), en mode réflexion totale atténuée (ATR) et permettre l'étude de chaque cellule microbienne individuellement et dans leur environnement aqueux.

Adapté de Meneghel, et al. (2020), <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02835-x>