

Mesure de la vitalité des microorganismes par cytométrie en flux

Marielle Bouix¹ (marielle.bouix@inra.fr), Sarrah Ghorbal¹, Agnès Delacroix-Buchet²

¹ GMPA, AgroParisTech, Grignon, France

² INRA, Jouy en Josas, France

Introduction et objectifs

La culture en boîte de pétri permet d'évaluer la cultivabilité des microorganismes, mais ne donne aucune information sur sa vitalité. La vitalité est associée à la cinétique de croissance ou de production d'un métabolite. Ainsi, des microorganismes viables pourront être très actifs, moyennement actifs, ou peu actifs. Ce critère est essentiel pour les ferments qui une fois ensemencés dans leur milieu doivent le coloniser le plus rapidement possible pour éviter le développement des flores indigènes ou de contamination.

Matériels et méthodes

La vitalité est généralement évaluée par une mesure cinétique, de croissance, de production de métabolites (acides, gaz...) ou de consommation d'oxygène suivant les microorganismes. Mais cette mesure nécessite d'effectuer une culture ce qui entraîne un temps de réponse de quelques heures. Plus les cellules sont actives, plus le temps nécessaire pour atteindre une DO (croissance), un pH donné (activité acidifiante), une quantité de CO₂ (activité gazogène), ou une PO₂ donnée (activité respiratoire) est court à nombre de cellules équivalent.

En fait la vitalité est d'autant plus importante que les cellules sont dans un bon état énergétique. La cytométrie en flux va permettre de caractériser cet état énergétique par une mesure de fluorescence. Nous proposons un descripteur cytométrique qui permet de caractériser la vitalité des microorganismes en 30min. Les corrélations sur plusieurs microorganismes sont présentées avec les mesures de temps de latence de re-croissance (*Staphylococcus aureus*), de vitesse d'acidification (*Lactococcus lactis*), de production de CO₂ (*Saccharomyces cerevisiae*), ou de vitesse de consommation d'oxygène (*Yarrowia lipolytica*).

Résultats, discussion et conclusion

Après la présentation de ces corrélations, un exemple de cinétique d'acidification d'un lait de fromagerie contaminé artificiellement par un *S. aureus* et ensemencé soit par un *L. lactis* très actif, soit par un *L. lactis* faiblement actif est présenté.

Cette mesure rapide de vitalité, permet donc de caractériser l'état d'un inoculum avant son ensemencement dans un milieu et ainsi d'optimiser le démarrage des cultures, ou l'état d'une culture en cours de fermentation pour prévoir la cinétique terminale.

Mots clés : Microorganismes - Vitalité - Cytométrie en flux.