**Caractérisation des populations microbiennes dans les aliments :**

**du phénotype aux génomes**

**Georges DAUBE, Bernard TAMINIAU**

**Université de Liège, FARAH, Faculté de Médecine vétérinaire**

**microbiologie des denrées alimentaires,**

**Sart-Tilman, bât. B43b, 4000 Liège, Belgique**

**Georges.Daube@ulg.ac.be**

La législation européenne exige des opérateurs du secteur agro-alimentaire qu’ils ne mettent sur le marché que des denrées alimentaires salubres qui non seulement ne provoqueront pas de maladies chez les consommateurs mais aussi qui conserveront jusqu’à leur date limite de consommation leurs caractéristiques organoleptiques attendues. Si le législateur a quelque peu balisé les moyens de contrôler la maîtrise des agents pathogènes, la gestion de la qualité des aliments est totalement à la discrétion des opérateurs.

Du point de vue analytique, les progrès réalisés ces dernières décennies vont dans le même sens. Les méthodes visant à la détection des bactéries pathogènes se sont fortement améliorées, permettant souvent d’obtenir un résultat présomptif en moins de 24 heures. Par contre, les méthodes de dénombrement restent fastidieuses et, à quelques exceptions près, peu discriminantes et informatives quant aux conséquences sur les produits contaminés.

Les progrès récents des techniques de séquençage en parallèle à haut débit et surtout la baisse drastique de leurs coûts sont proches de provoquer une révolution d’ampleur similaire à celle liées à la mise au point des cultures microbiennes il y a plus d’un siècle. Ces découvertes ont permis d’isoler les micro-organismes et ensuite de les caractériser individuellement afin de mieux comprendre leurs interactions avec les aliments et leurs hôtes. Les nouveaux développements méthodologiques indépendants de la culture permettent, eux, d’appréhender, en une fois, l’ensemble des populations microbiennes en termes d’identité, de proportion, de cinétique de développement et même de fonctionnalité. Dans beaucoup de circonstances, les phénomènes constatés de virulence pour l’hôte et surtout d’altération des aliments résultent de mécanismes complexes lié à l’ensemble de l’écosystème microbien, jusqu’ici très peu accessible.

Ces technologies ont beaucoup d’applications possibles. En effet, pratiquement toutes les questions liées à la présence et/ou la multiplication des micro-organismes dans les aliments peuvent être appréhendées par cette approche.

La diminution des coûts devrait généraliser l’utilisation du séquençage haut débit pour réaliser le séquençage complet de génomes microbiens afin de préciser le potentiel génétique mais aussi, de plus en plus, simplement pour typer une souche préalablement isolée, rendant d’un coup obsolètes toutes les autres méthodes de typage.

Plus innovante est l’approche de caractérisation globale des écosystèmes microbiens des aliments sans culture préalable. Pour des coûts acceptables, il est maintenant possible, par une approche métagénomique ciblée sur un fragment du gène de l’ARN ribosomial 16S, d’investiguer, sur une profondeur de l’ordre de 4 à 5 logarithmes et avec une fiabilité d’interprétation au niveau de l’espèce de souvent plus de 90%, les composantes d’une population bactérienne d’un aliment. Couplée à des techniques permettant de masquer l’ADN de bactéries mortes ou de flores largement dominantes, cette approche permet, en 3 jours, de connaître les proportions relatives de toutes les bactéries présentes dans un échantillon faiblement à moyennement contaminé. Pour les aliments périssables fortement contaminés, les méthodes classiques de culture permettent, en général, de connaître le niveau global de la flore et donc d’en déduire le niveau absolu de contamination par chaque taxon et de définir le seuil de détection de chaque analyse.

En ciblant d’autres gènes spécifiques de certaine branches taxonomiques ou codant pour certaines fonctions, ou en réalisant un séquençage aléatoire de tous les génomes présents, des réponses plus précises peuvent être apportées. En visant les ARN messagers, une première approche de fonctionnalité est aussi possible. L’accès aux autres composantes des écosystèmes microbiens que sont les moisissures, les levures, les protozoaires, voire les virus et les bactériophages, est aussi possible. Enfin, l’amplification et le séquençage direct de certains gènes à partir de bouillons d’enrichissement devraient permettre la détection et le typage en une seule étape de la ou des souche(s) de bactéries pathogènes éventuellement présentes dans un aliment afin d’accélérer les enquêtes épidémiologiques dans les entreprises agro-alimentaires ou dans des foyers de toxi-infections d’origine alimentaire.

En conclusion, les technologies de séquençage de nouvelle génération sont enfin accessibles au domaine de la microbiologie des aliments, non seulement dans un cadre de recherche scientifique mais aussi pour répondre aux questions pratiques des opérateurs. Les limites sont actuellement seulement celles de l’imagination. Pour une utilisation dans un cadre légal, leur standardisation sera nécessaire mais elles sont suffisamment robustes pour être, dès à présent, utilisées dans le cadre de l’autocontrôle industriel.