

CONGRÈS NATIONAL DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

1-3 OCT. 2018

CITÉ DES SCIENCES ET DE L'INDUSTRIE
PARIS

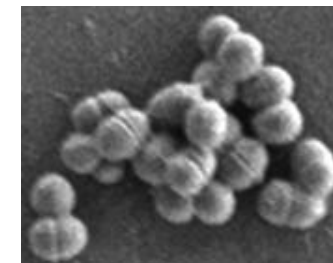


In vitro assessment of the probiotic properties and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus pentosaceus* MZF16, isolated from artisanal Tunisian meat « Dried Ossban »

Mohamed Zommiti, Emeline Bouffartigues, Khaled Sebei, Marc Feuilloley, Mounir Ferchichi and Nathalie Connil

Unité de Protéomique Fonctionnelle et Potentiel Nutraceutique de la Biodiversité de Tunisie, Université de Tunis El- Manar, Tunis, (Tunisia)

Laboratoire de Microbiologie Signaux et Microenvironnement (LMSM) EA 4312, Université de Rouen, Évreux, (France)





CONGRÈS NATIONAL DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

1-3 OCT. 2018

CITÉ DES SCIENCES ET DE L'INDUSTRIE
PARIS



Déclaration de conflit d'intérêt

Pour cette présentation, je déclare n'avoir aucun conflit d'intérêt.

Le genre *Pediococcus*

Bactérie à Gram positif, homofermentaire
Groupe des Bactéries lactiques
Proche du genre *Lactobacillus* (%G-C faible)

Espèces : *P. acidilactici*

P. cellicola

P. clausenii

P. damnosus

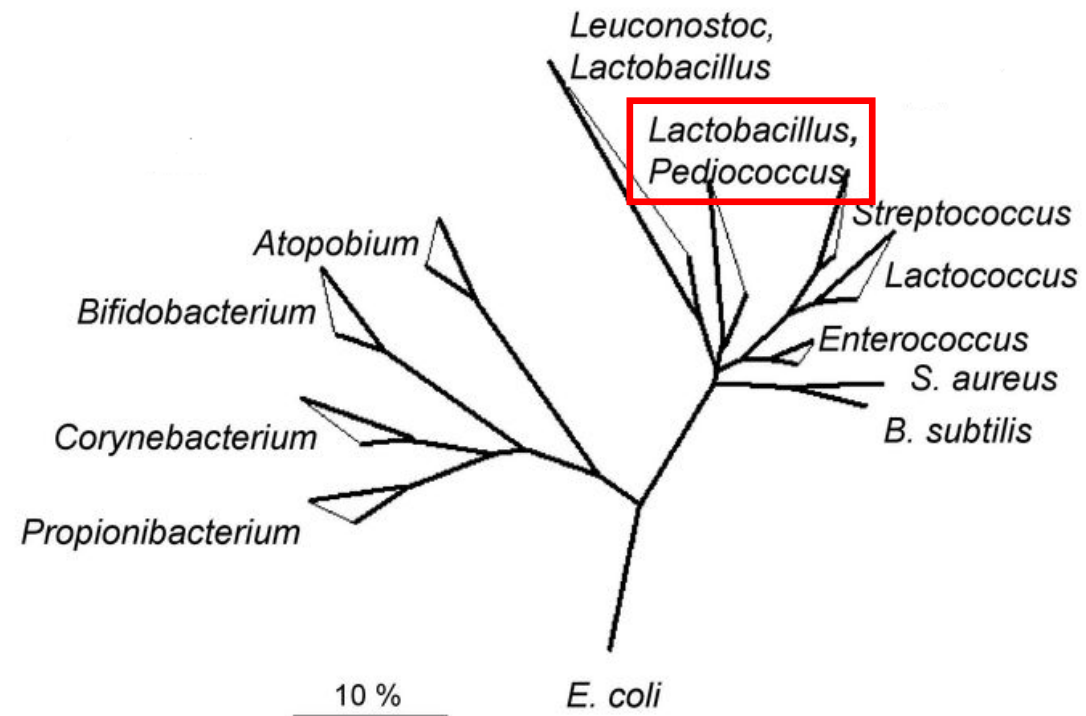
P. ethanolidurans

P. inopinatus

P. parvulus

P. pentosaceus

P. stilesii



Les bactéries lactiques

(Schleifer a Ludwig, *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, 1999)

Habitat

Pediococci

Isolés de sources variées
(sol, plant, saucisse, épices, fromage, vin...)

Utilisés comme starter en industrie alimentaire pour la fermentation des **végétaux** (ensilage, choucroute) et fermentation des **produits carnés** (saucisses)



Effets probiotiques

Pediococcus acidilactici MA 18/5M

=1er ferment lactique probiotique autorisé en Union Européenne comme **additif en nutrition animale**, contenant la **bactérie vivante**.

Utilisation en aquaculture pour l'élevage des crevettes et des poissons et comme eau de boisson à destination des porcelets sevrés, porcs charcutiers, poules pondeuses et poulets de chair

Lallemand Animal Nutrition
BACTOCELL
BACTOCELL® DRINK



Lutte contre les virus, les pathogènes, traitement des diarrhées.

Peu d'études chez l'homme
Pediococcus pentosaceus SB83 proposé comme probiotique vaginal.

Statut GRAS

(generally recognized as safe)
Mais quelques cas d'infections

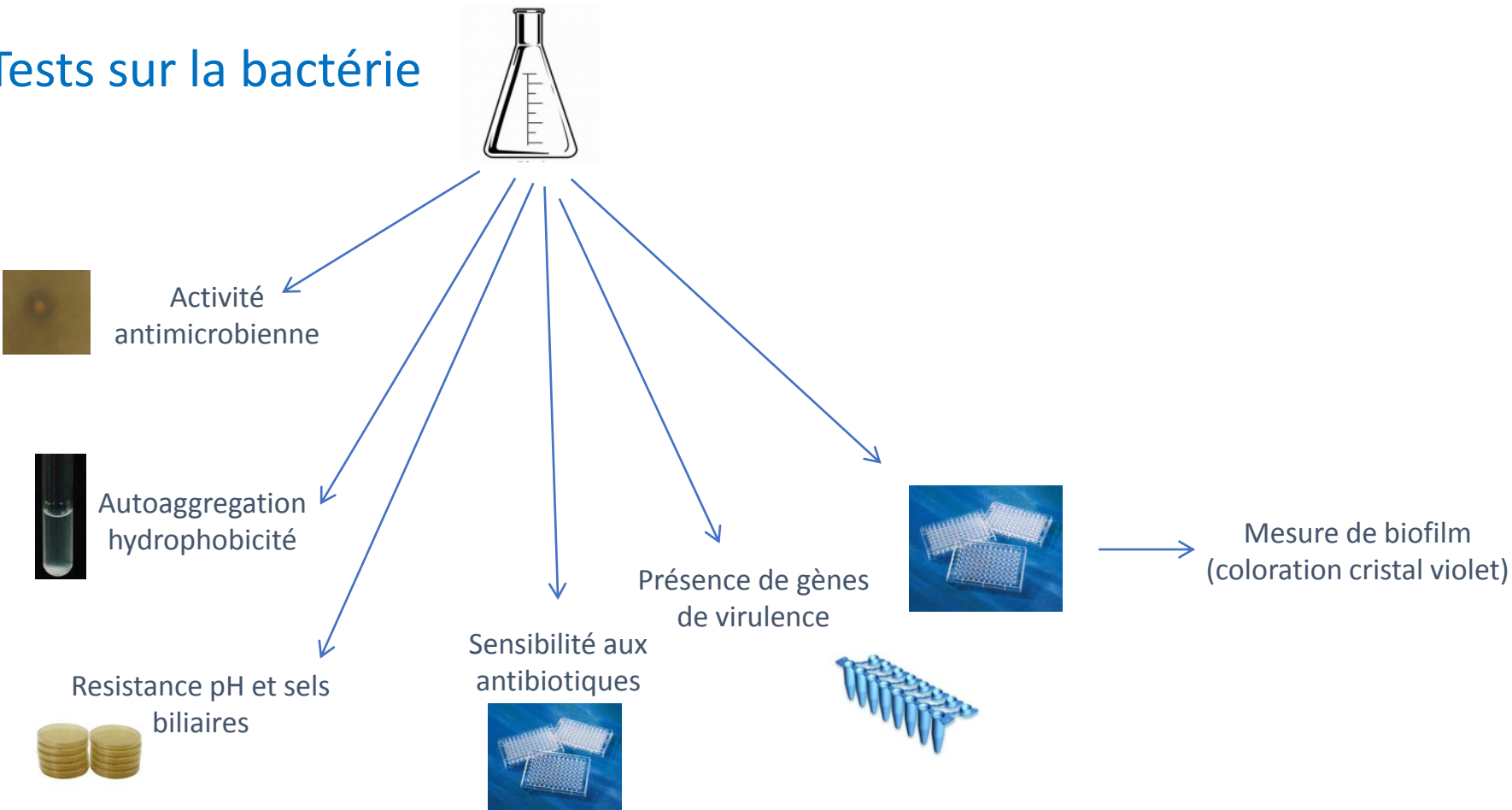
In vitro assessment of the probiotic properties and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus pentosaceus* MZF16, isolated from artisanal Tunisian meat « Dried Ossban »



Viande séchée

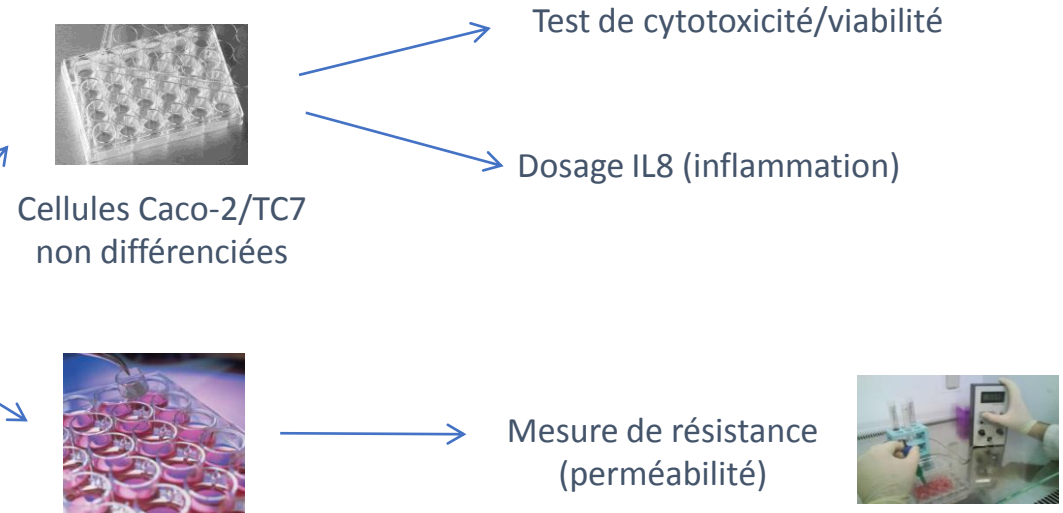
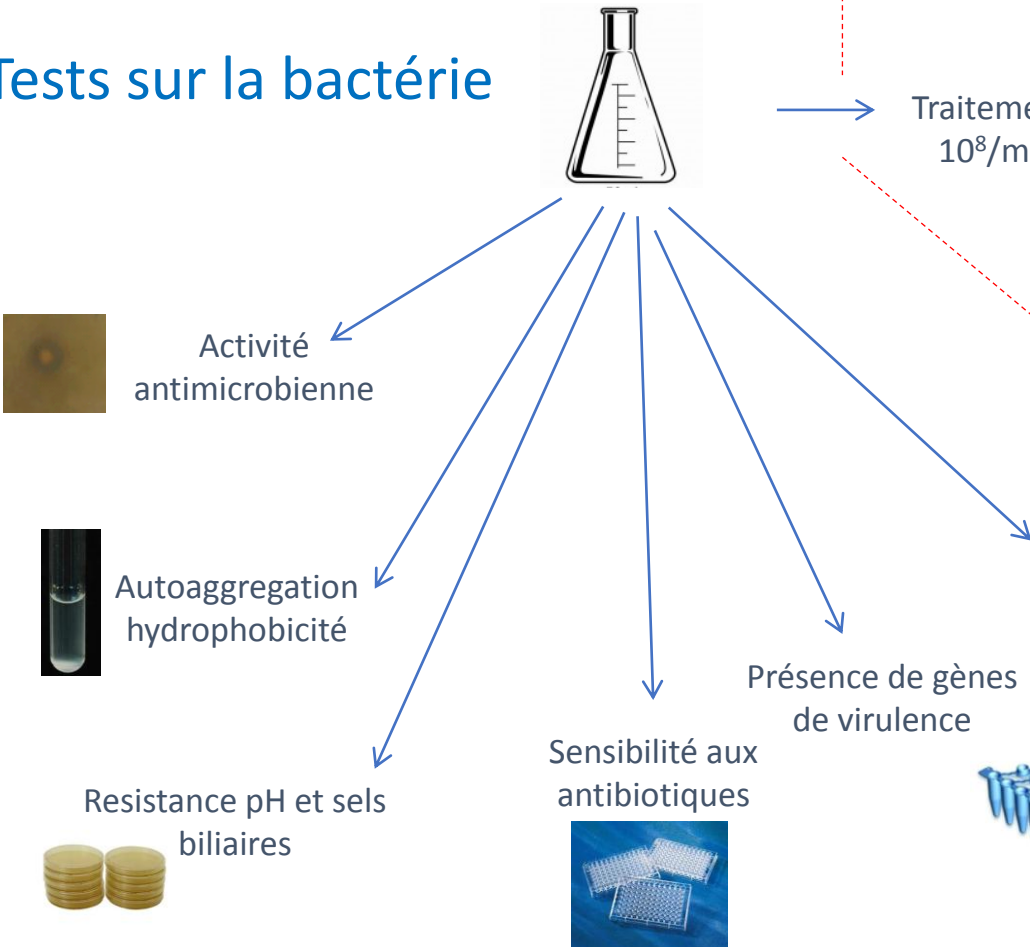
Pediococcus pentosaceus MZF16

Tests sur la bactérie

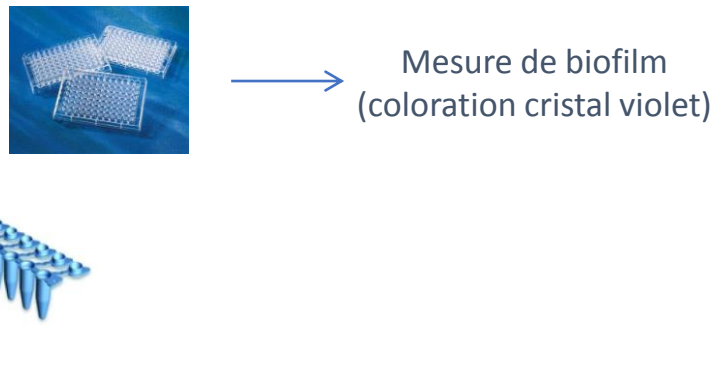


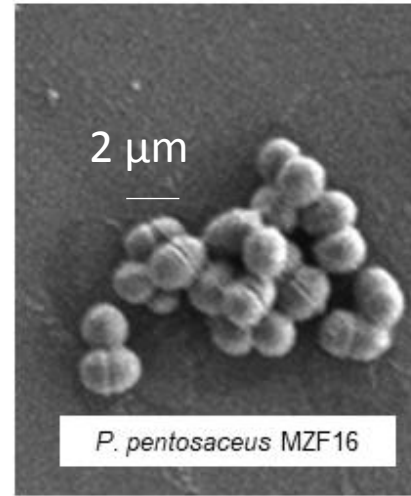
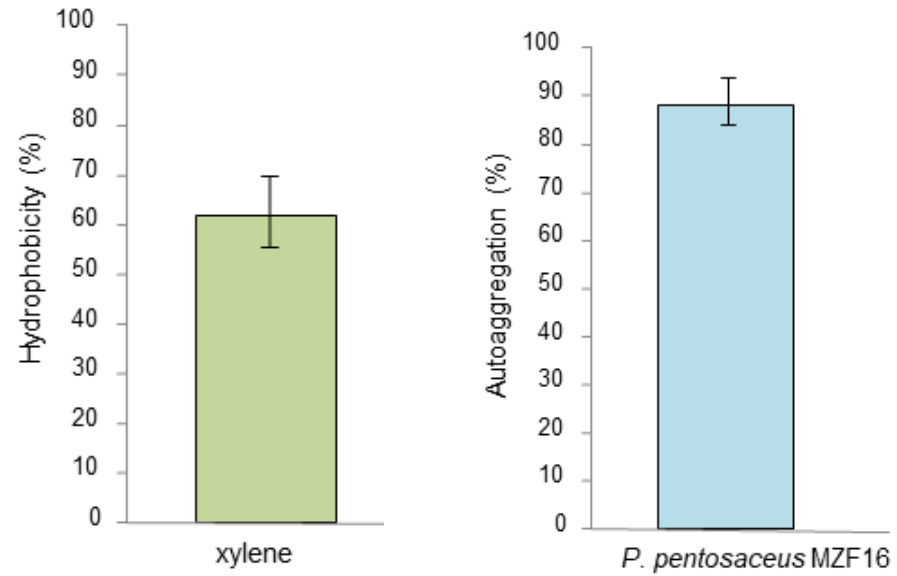
Pediococcus pentosaceus MZF16

Tests sur la bactérie

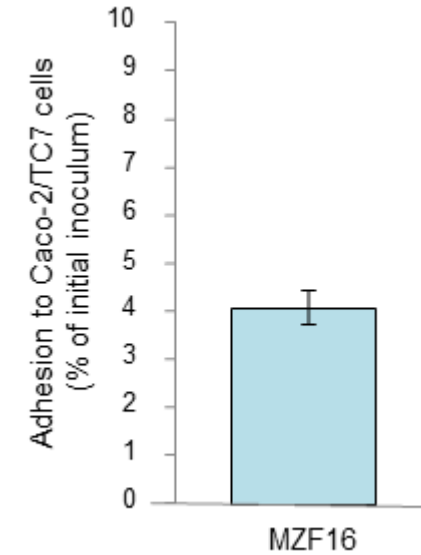
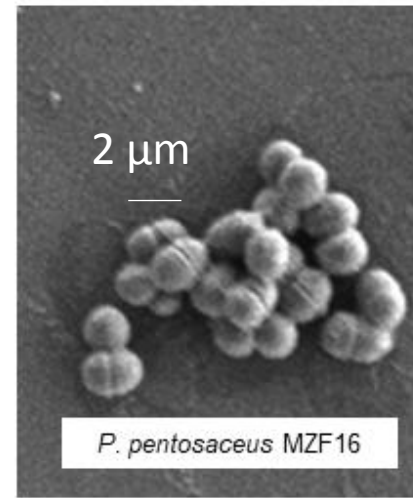
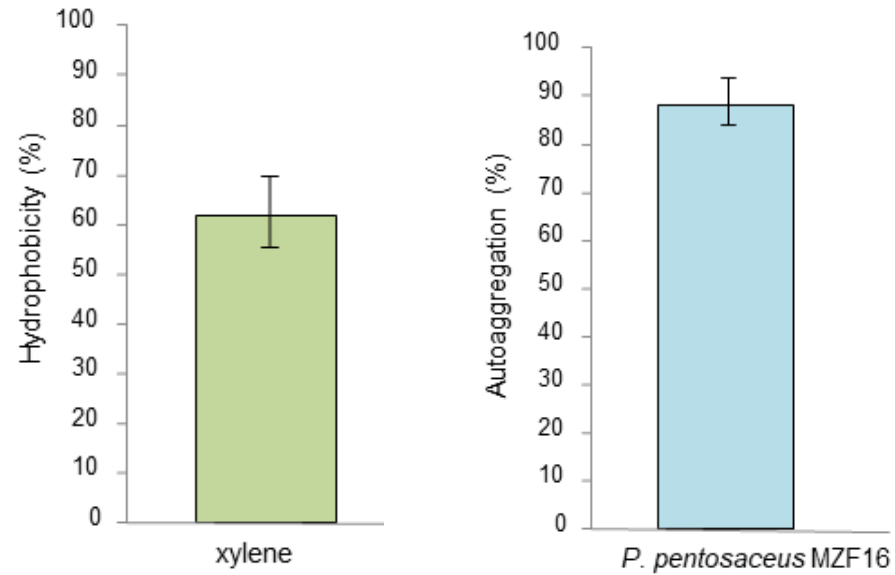


Tests sur cellules eucaryotes



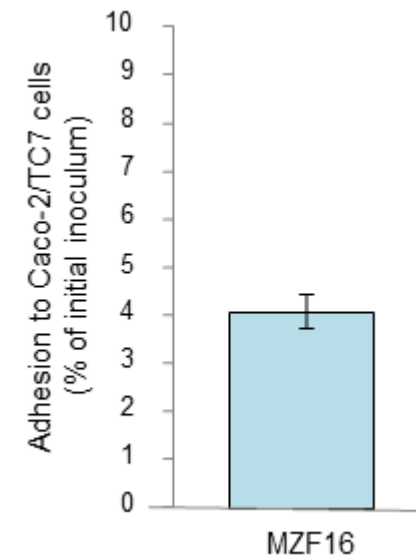
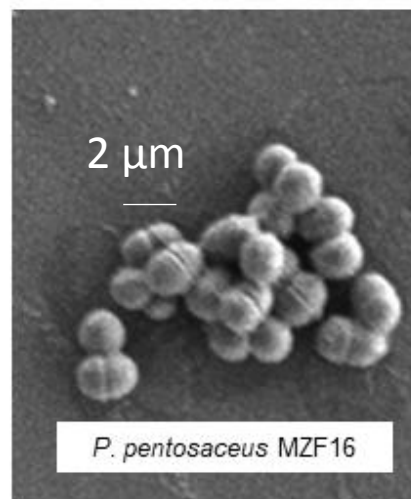
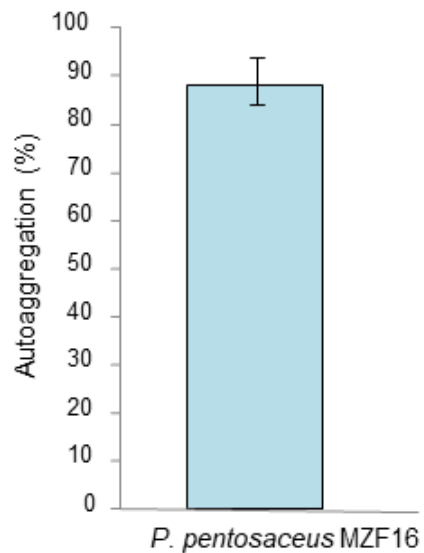
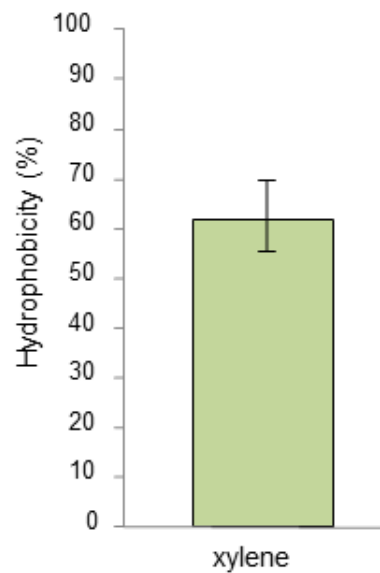


Pourcentage d'hydrophobicité élevée (adhésion au xylène)
Forte autoaggrégation (89%)



Pourcentage d'hydrophobicité élevée (adhésion au xylène)
Forte autoagrégation (89%)

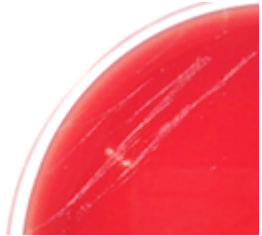
Adhésion aux cellules Caco-2/TC7
Formation modérée de biofilms
Résistance à l'acidité et aux sels biliaries



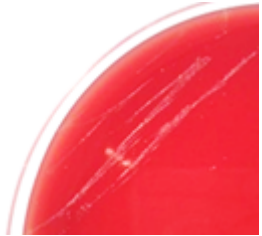
Pourcentage d'hydrophobicité élevée (adhésion au xylène)
Forte autoaggrégation (89%)

Adhésion aux cellules Caco-2/TC7
Formation modérée de biofilms
Résistance à l'acidité et aux sels biliaries

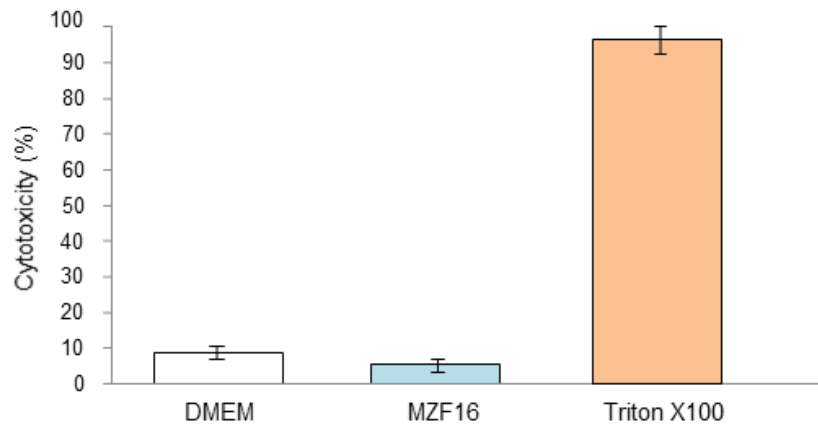
→ Capacité de *Pediococcus pentosaceus* MZF16 à coloniser le tractus gastrointestinal



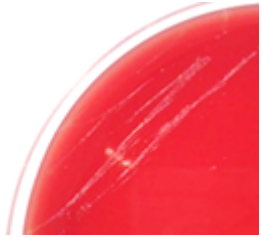
Pas d'activité hémolytique
sur gélose au sang



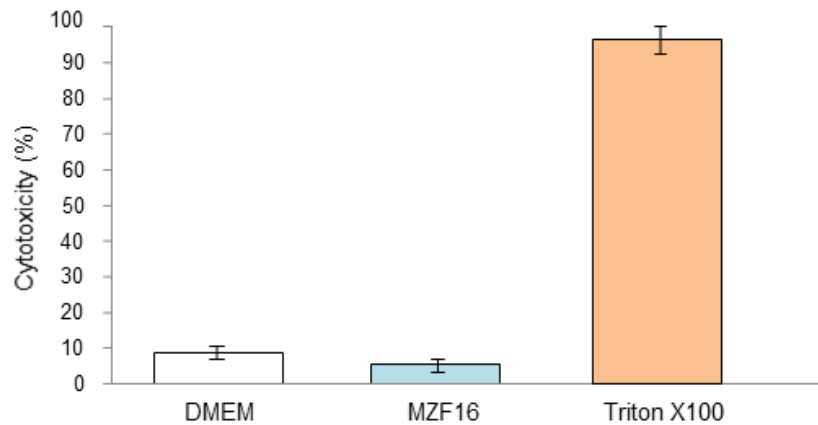
Pas d'activité hémolytique
sur gélose au sang



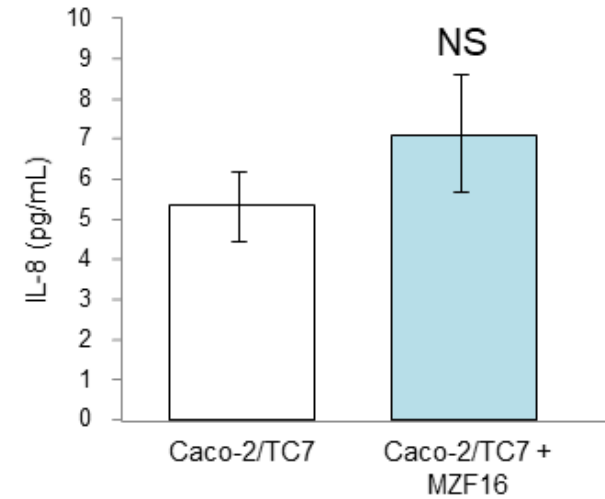
Pas de cytotoxicité sur cellules Caco-2/TC7



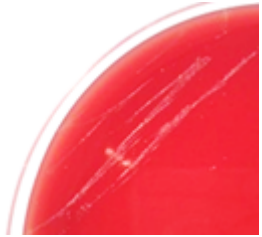
Pas d'activité hémolytique
sur gélose au sang



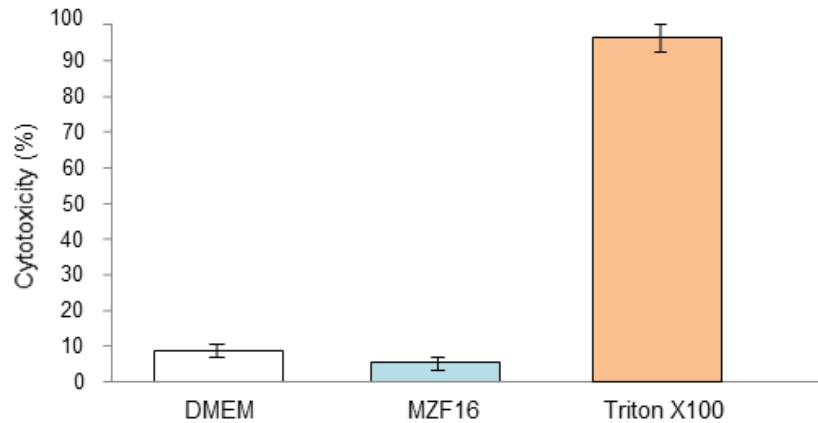
Pas de cytotoxicité sur cellules Caco-2/TC7



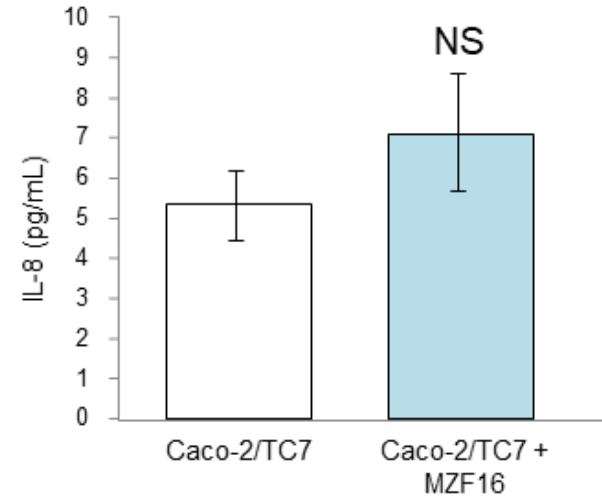
Stimulation non significative
de la sécrétion IL-8
des cellules Caco-2/TC7



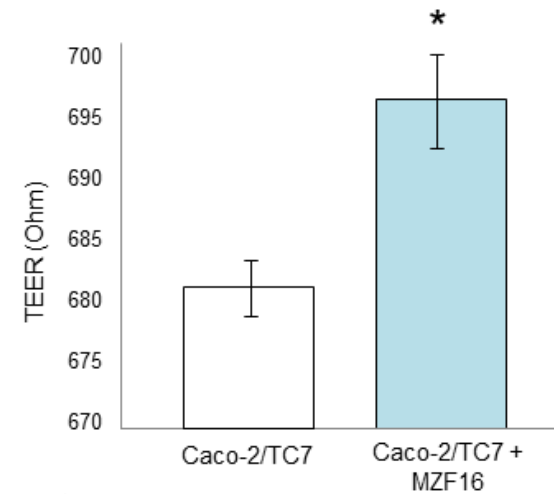
Pas d'activité hémolytique
sur gélose au sang



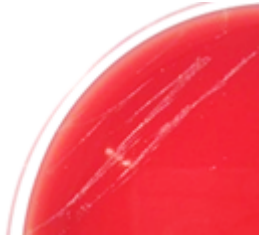
Pas de cytotoxicité sur cellules Caco-2/TC7



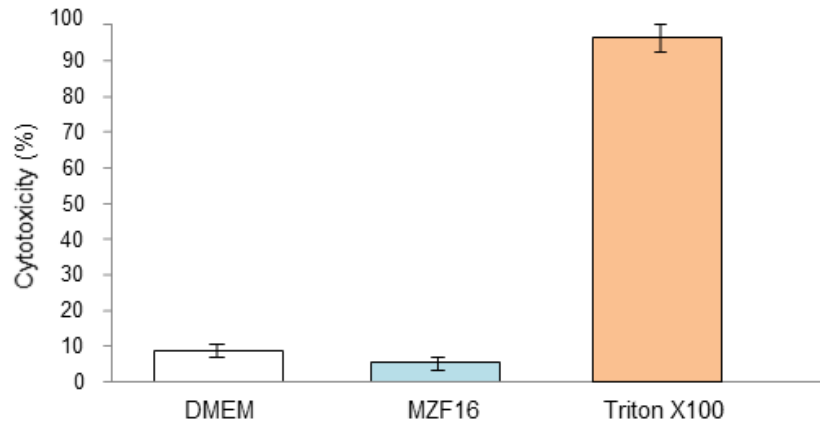
Stimulation non significative
de la sécrétion IL-8
des cellules Caco-2/TC7



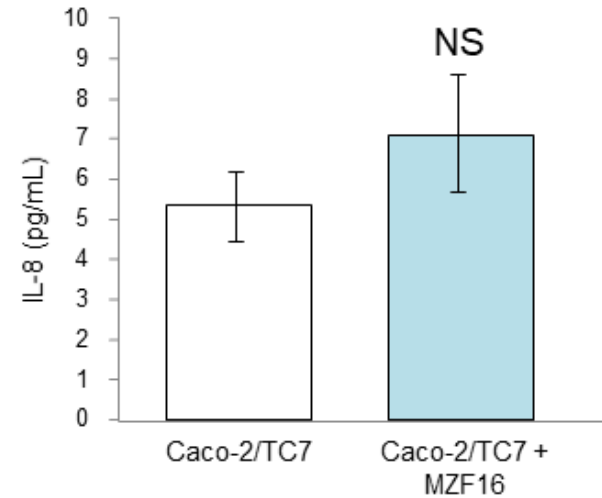
Augmentation de la résistance
transepithéliale (TEER)
des cellules Caco-2/TC7
différenciées sur inserts



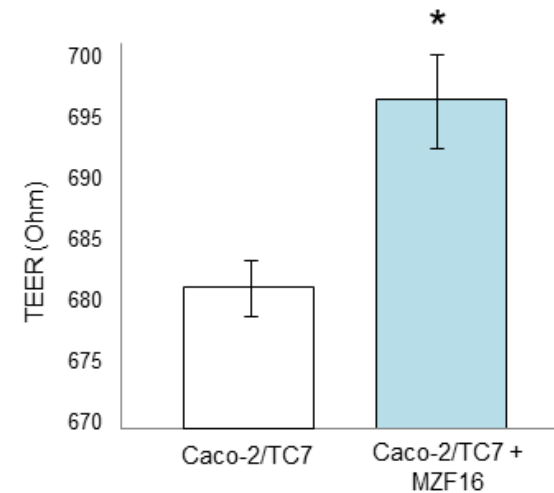
Pas d'activité hémolytique
sur gélose au sang



Pas de cytotoxicité sur cellules Caco-2/TC7



Stimulation non significative
de la sécrétion IL-8
des cellules Caco-2/TC7



Augmentation de la résistance
transepithéliale (TEER)
des cellules Caco-2/TC7
différenciées sur inserts

→ Effet bénéfique de *Pediococcus pentosaceus* MZF16 sur l'intestin

Activité antimicrobienne de *Pediococcus pentosaceus* MZF16

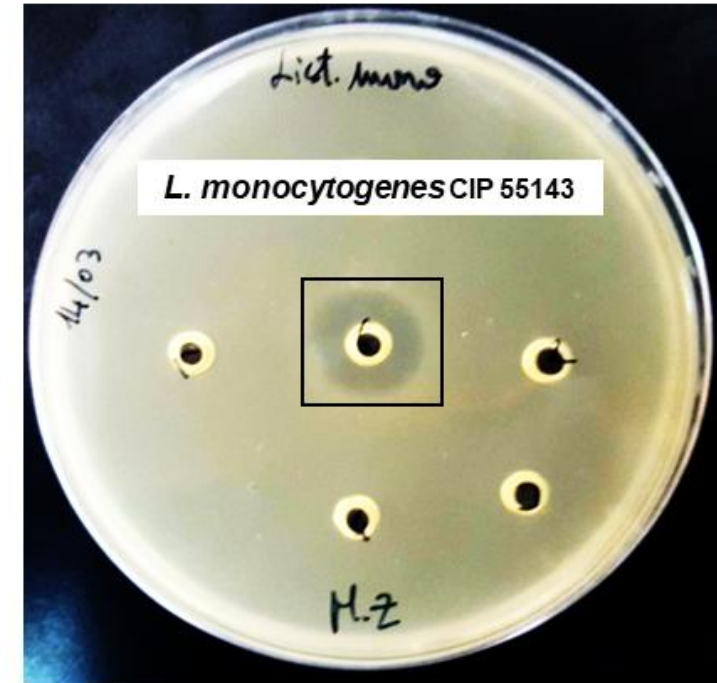
Indicator strains	Inhibition zone (mm)* of MZF16			
	Non-treated CFCS	Neutralized at pH 6.5	Proteinase K	Heat treatment
<i>L. innocua</i> HBP13	+++	++	-	++
<i>L. monocytogenes</i> CIP 55143	+++	++	-	++
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	+++	+++	-	++
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	++	++	-	+
<i>P. pentosaceus</i> MZF16	-	-	-	-

* - No inhibition zone, + < 3 mm, ++ 3–6 mm, +++ radius inhibit zone > 6 mm

Activité antimicrobienne de *Pediococcus pentosaceus* MZF16

Indicator strains	Inhibition zone (mm)* of MZF16			
	Non-treated CFCS	Neutralized at pH 6.5	Proteinase K	Heat treatment
<i>L. innocua</i> HBP13	+++	++	-	++
<i>L. monocytogenes</i> CIP 55143	+++	++	-	++
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	+++	+++	-	++
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	++	++	-	+
<i>P. pentosaceus</i> MZF16	-	-	-	-

* - No inhibition zone, + < 3 mm, ++ 3–6 mm, +++ radius inhibit zone > 6 mm

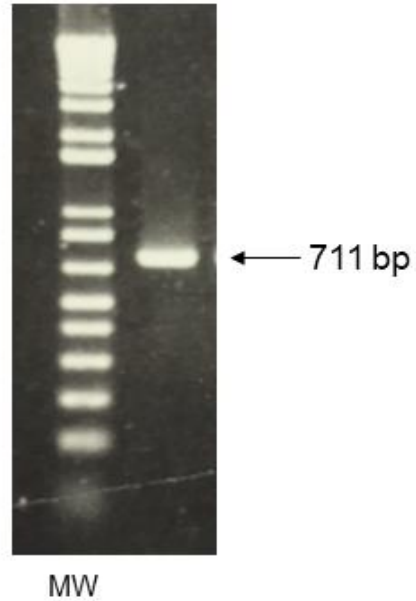


Pediococcus pentosaceus MZF16 est active contre *Listeria monocytogenes* CIP 55143.

Traitement à la proteinase K : perte d'activité

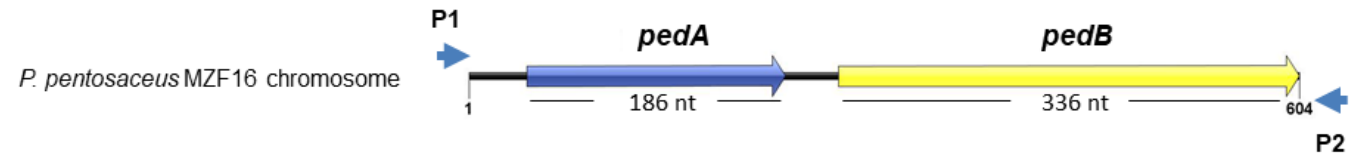
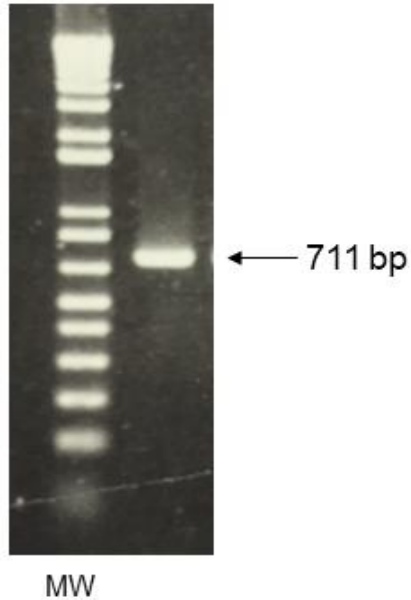
Substance inhibitrice = bactériocine

→ **Pediocine MZF16**



Etude de la pediocine MZF6 par amplification PCR à l'aide des amorces P1 et P2 construites pour amplifier l'opéron de la pediocine PA-1 chez *P. acidilactici* PAC 1.0. (Marrug et al., 1992)

→ Séquençage de l'amplicon



Résultat du séquençage

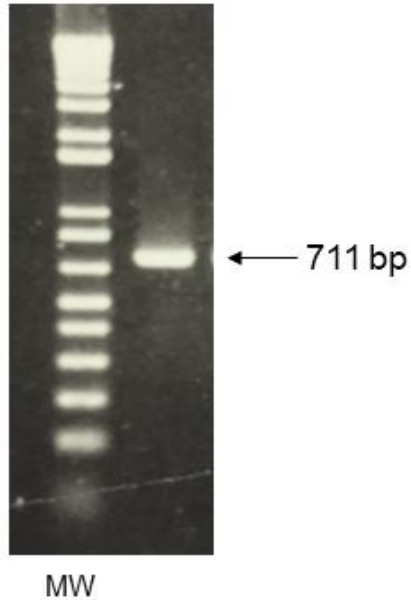
Organisation chromosomique similaire à celle de *P. acidilactici*

-presence du gène *pedA* qui code pour la pédiocine MZF16 putative

-gène *pedB* qui code pour la protéine d'immunité putative

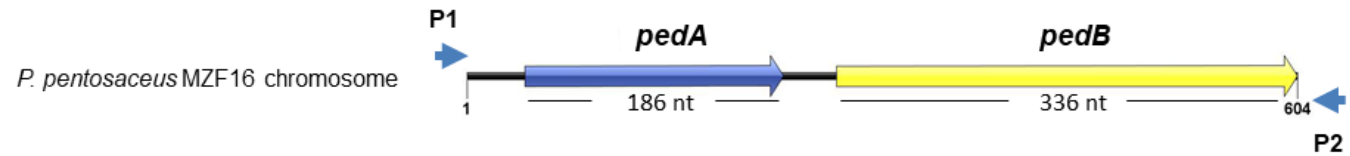
Etude de la pédiocine MZF6 par amplification PCR à l'aide des amorces P1 et P2 construites pour amplifier l'opéron de la pédiocine PA-1 chez *P. acidilactici* PAC 1.0. (Marrug et al., 1992)

→ Séquençage de l'amplicon



Etude de la pediocine MZF6 par amplification PCR à l'aide des amorces P1 et P2 construites pour amplifier l'opéron de la pediocine PA-1 chez *P. acidilactici* PAC 1.0. (Marrug et al., 1992)

→ Séquençage de l'amplicon



Résultat du séquençage

Organisation chromosomique similaire à celle de *P. acidilactici*

-presence du gène *pedA* qui code pour la pédiocine MZF16 putative

-gène *pedB* qui code pour la protéine d'immunité putative



Traduction de *PedA* en acides aminés en utilisant BlastX.

Pédiocine MZF16 putative possède le motif YGNGV des bactériocines de classe IIa, responsable de l'activité *anti-Listeria*.

Pédiocine MZF16 : **100% identique avec coaguline A** de *Bacillus coagulans*, et comprend un acide aminé différent comparé à la pédiocine PA-1 de *P. acidilactici* PAC1.0 (T à la place de N).

In vitro assessment of the probiotic properties and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus pentosaceus* MZF16, isolated from artisanal Tunisian meat « Dried Ossban »

Conclusion

- Capacité à coloniser le tractus gastrointestinal (hydrophobicité, autoaggregation, adhesion)
- Absence de cytotoxicité
- Effet bénéfique sur l'intestin (↗ TEER, stimulation de la barriere intestinale)
- Absence de gènes de virulence et gènes de résistance aux antibiotiques
- Activité anti-*Listeria*
- Pediocine MZF6 (nouvelle pediocine 100% identique à la coaguline A)

In vitro assessment of the probiotic properties and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus pentosaceus* MZF16, isolated from artisanal Tunisian meat « Dried Ossban »

Conclusion

- Capacité à coloniser le tractus gastrointestinal (hydrophobicité, autoaggregation, adhesion)
- Absence de cytotoxicité
- Effet bénéfique sur l'intestin (↗ TEER, stimulation de la barriere intestinale)
- Absence de gènes de virulence et gènes de résistance aux antibiotiques
- Activité anti-*Listeria*
- Pediocine MZF6 (nouvelle pediocine 100% identique à la coaguline A)



Perspectives

- Tests virulence de *P. pentosaceus* MZF16 sur modèles *in vivo*
 - *Caenorhabditis elegans*
 - souris



- Essai antagonisme anti-*Listeria* sur modèles cellulaires



- Etude du comportement de *P. pentosaceus* MZF6 dans les produits carnés et laitiers

Remerciements

Tous les membres du LMSM
Laboratoire de Microbiologie Signaux et Microenvironnement
Université de Rouen, France



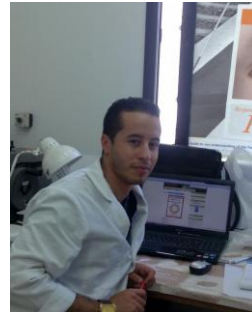
Collaborateurs

Dr Mounir Ferchichi

Unité de Protéomique Fonctionnelle et Potentiel Nutraceutique
de la Biodiversité de Tunisie, Institut Supérieur des Sciences
Biologiques Appliquées de Tunis (ISSBAT), Université de Tunis El-
Manar, Tunisia.

Mohamed Zommiti

Doctorant ISSBAT





Merci

Merci de votre attention



Dr Nathalie Connil
Maitre de Conférences-HDR
Laboratoire de microbiologie, signaux et microenvironnement
Université de Rouen/Evreux (France)

شكرًا

