Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

ÉPREUVE E3. UNITÉ U32

Microbiologie et technologies d'analyse

LES PROBIOTIQUES

Calculatrice non autorisée

On appelle probiotique (de « pro », en faveur et « bios », vie) une préparation microbienne administrée par voie orale et qui a une action bénéfique sur l'hôte (amélioration de la digestion et de l'hygiène intestinale).

Par extension, les aliments fermentés sont souvent aussi considérés comme vecteurs de probiotiques.

Ces préparations sont utilisées préventivement comme additifs dans l'alimentation animale et humaine et également en thérapeutique comme traitement symptomatique d'appoint des diarrhées.

1 - Caractéristiques des souches de probiotiques. (26 points)

1.1 - Aspects morphologiques et physiologiques. (11,5 points)

1.1.1 - Beaucoup de probiotiques appartiennent au genre *Lactobacillus*. Les principaux caractères du genre sont listés dans le **document 1**.

1.1.1.1 - Représenter sous forme d'un schéma légendé les enveloppes d'un *Lactobacillus* en mettant en évidence les structures moléculaires et en respectant les proportions.

1.1.1.2 - Préciser et justifier les types trophiques énergétique et carboné de ces bactéries.

1.1.1.3 - Expliquer le terme polyauxotrophe.

1.1.2 - Beaucoup de *Lactobacillus* utilisés comme probiotiques ont un métabolisme strictement homofermentaire.

1.1.2.1 - Indiquer ce que signifie cette expression et encadrer sur le **document 2 (à rendre avec la copie)** la ou les voie(s) catabolique(s) utilisée(s) par ces probiotiques.

1.1.2.2 - Quel est le comportement des souches de *Lactobacillus* vis-à-vis de l'oxygène ? Peut-on établir un lien entre ce caractère et le déficit en catalase ?

1.2 - Propriétés spécifiques des probiotiques. (14,5 points)

1.2.1 - Un bon probiotique doit résister aux conditions hostiles du transit digestif.

Préciser, en passant en revue le trajet d'un probiotique depuis son absorption orale jusque dans l'intestin, les différentes molécules ou conditions hostiles qu'une telle souche va rencontrer.

1.2.2 - Au niveau intestinal l'idéal pour une souche probiotique serait d'adhérer à l'épithélium intestinal et de s'y multiplier au même titre que la flore autochtone.

Présenter les différentes populations microbiennes de la flore intestinale de l'homme adulte en précisant notamment les aspects quantitatifs et les genres ou familles représentatives.

1.2.3 - L'adhérence effective des probiotiques aux cellules intestinales est encore discutée. En effet, il est possible que les probiotiques ne se développent que dans le mucus intestinal ou bien ne puissent exister que dans la lumière intestinale, leur présence étant alors liée à une ingestion très régulière d'inoculum de la souche.

Le **document 3** décrit une expérience de « colonisation » in vivo de l'intestin humain réalisée à l'aide d'une souche de *Lactobacillus casei* résistant à la rifampicine.

1.2.3.1 - Évaluer la concentration du lait en *Lactobacillus casei* en $UFC.g^{-1}$.

1.2.3.2 - Analyser les résultats de l'expérience. Permet-elle de trancher entre les différentes hypothèses concernant le devenir des souches probiotiques dans l'intestin d'un hôte ?

1.2.3.3 - Quel est l'intérêt d'utiliser des spores comme témoin ?

1.2.4 - Les variants résistants de l'expérience décrite dans le **document 3** ne sont pas détruits même en cas de traitement de l'hôte par la rifampicine. Cet antibiotique agit sur la transcription de l'ADN.

1.2.4.1 - En utilisant la structure de la rifampicine donnée dans le **document 4**, proposer son mode de pénétration dans la cellule.

1.2.4.2 - Préciser son mode d'action.

1.2.4.3 - Citer les différents mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques.

2 - Avantage de l'utilisation de souches probiotiques sur l'hôte. (14 points)

Les additifs alimentaires sont depuis longtemps utilisés dans l'alimentation animale pour améliorer les rendements de production et maintenir les animaux en bonne santé.

2.1 - Inhibition du développement des bactéries entéropathogènes. (8 points)

2.1.1 - L'intestin est la porte d'entrée potentielle de bactéries transmises par les aliments et à l'origine de toxi-infections alimentaires.
Définir le terme toxi-infection alimentaire ou TIA.

2.1.2 - Des études ont montré que les bactéries telles que *Lactobacillus casei var rhamnosus* exercent un pouvoir inhibiteur sur l'adhésion de plusieurs bactéries entéropathogènes notamment des *Escherichia coli* entérotoxinogènes.
Ces derniers sont responsables de la diarrhée du voyageur également appelée « Tourista » qui se traduit par des diarrhées très liquides non purulentes, sans fièvre.

2.1.2.1 - Décrire le mode d'adhésion des *Escherichia coli* entérotoxinogènes aux entérocytes et expliquer comment ils expriment leur pouvoir pathogène. Détailler le mode d'action de l'entérotoxine.

2.1.2.2 - Préciser le réservoir de la bactérie ainsi que son mode de transmission.

2.1.2.3 - Quels mécanismes ou biosynthèses peuvent expliquer une action inhibitrice des souches de probiotiques sur la survie ou le développement de bactéries entéropathogènes dans l'intestin ?

2.2 - Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire. (6 points)

2.2.1 - La digestion du lait est parfois rendue difficile par l'absence ou de la synthèse insuffisante de bêta-galactosidase par les entérocytes.
Indiquer le rôle de la bêta-galactosidase. En déduire l'action favorable que peuvent jouer les souches de probiotiques dans la digestion du lait.

2.2.2 - La mise en évidence d'une bêta-galactosidase est classiquement utilisée au cours des identifications de bactéries Gram négatif.

2.2.2.1 - Expliquer le principe et la réalisation de ce test en macrométhode.

2.2.2.2 - On effectue souvent ce test dans le cas de bactéries ne métabolisant pas le lactose sur les milieux classiques d'isolement ou d'identification. Justifier cette pratique.

3 - Production de souches probiotiques au niveau pilote. (20 points)

3.1 - Processus de culture. (4,5 points)

3.1.1 - Les bactéries lactiques utilisées industriellement comme probiotiques sont traditionnellement propagées en cuve fermée par fermentation discontinue.
Quel autre terme peut-on utiliser pour désigner une fermentation discontinue ? Préciser quelle est la limite d'un tel système dans le cas particulier de souches lactiques.

3.1.2 - Au cours de leur fabrication, les souches lactiques peuvent être contaminées par des bactériophages.
Schématiser les différentes étapes permettant le dénombrement des bactériophages dans une suspension de bactéries lactiques par la méthode des micro-gouttes ou spots.

3.2 - Étude des conditions de production de *Bifidobacterium longum*. (14,5 points)

On souhaite produire une culture mixte de probiotiques constituée d'une souche de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium longum*. *B.longum* est une souche peu compétitive, donc on envisage de la produire dans un premier temps en culture pure avant de la mélanger au *Lactobacillus*. L'étude de sa culture est expérimentée au stade du pilote de laboratoire.

3.2.1 - La souche utilisée est *B.longum* ATCC15707.
Donner la signification des initiales ATCC. Que veut dire ce sigle placé à côté d'un nom de micro-organisme ?

3.2.2 - La culture est entretenue à 37°C sur gélose MRS supplémentée (m/v) avec 0,02 % Na_2CO_3, 0,05 % de cystéine et 2,5 % de perméat de lactosérum (MRS-WP).

3.2.2.1 - Préciser à quoi correspond le perméat de lactosérum.

3.2.2.2 - En utilisant la composition de la gélose MRS de base donnée dans le **document 5** :

- indiquer les quantités en $g.L^{-1}$ de Na_2CO_3, cystéine et perméat de lactosérum du milieu complet ;
- donner le rôle des composants du milieu MRS-WP.

3.2.3 - Le fermenteur utilisé contient 3,3 L de milieu MRS-WP cultivé en présence de CO_2 à 37°C pendant 12 heures. Il est ensemencé par un inoculum de la souche à raison de 2 % (v/v). L'inoculum proprement dit est reconstitué en MRS-WP à partir d'une suspension-stock congelée à - 80°C.

3.2.3.1 - Indiquer la principale précaution à prendre pour conserver une souche microbienne à - 80°C.

3.2.3.2 - Calculer le volume d'inoculum à ajouter au milieu de fermentation.

3.2.4 - Trois fermentations sont réalisées à pH 5,5 (pH optimal) en MRS-WP, 3 autres à pH 5,5 en MRS. Des échantillons sont prélevés toutes les 2 heures pour mesurer la densité de cellules revivifiables, les taux de glucose, lactose, galactose, acide lactique et acide acétique.

3.2.4.1 - Préciser l'intérêt de réaliser les cultures en trois exemplaires.

3.2.4.2 - Expliquer comment on peut déterminer la densité de bactéries viables pour chacun des prélèvements (méthode, milieu, conditions d'incubation).

3.2.5 - L'évolution des taux de glucides et d'acides au cours du temps est présentée sur le **document 6**.

3.2.5.1 - Expliquer pourquoi les glucides sont différents entre les graphiques a et b.

3.2.5.2 - Analyser les résultats et conclure quant au choix du milieu le plus adapté pour la culture de *B.longum*.

DOCUMENT 1 :

CARACTÈRES DU GENRE *LACTOBACILLUS*

Les Lactobacillus sont des bâtonnets droits ou incurvés, isolés ou en chaînettes, très saccharolytiques, ils libèrent de l'acide lactique D, L ou DL. Ils ne réduisent pas les nitrates. Ils sont gélatinase, caséine, indole et H_2S-. Ils ne possèdent pas de catalase ni de cytochrome oxydase. Les colonies sont parfois pigmentées en rouge brique, le CO_2 à la concentration de 5 à 10 % stimule souvent leur croissance. Ils sont souvent polyauxotrophes.

Académie : Session :

Examen ou Concours Série* :

Spécialité/option* : Repère de l'épreuve :

Épreuve/sous-épreuve :

NOM :

(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)

Prénoms :

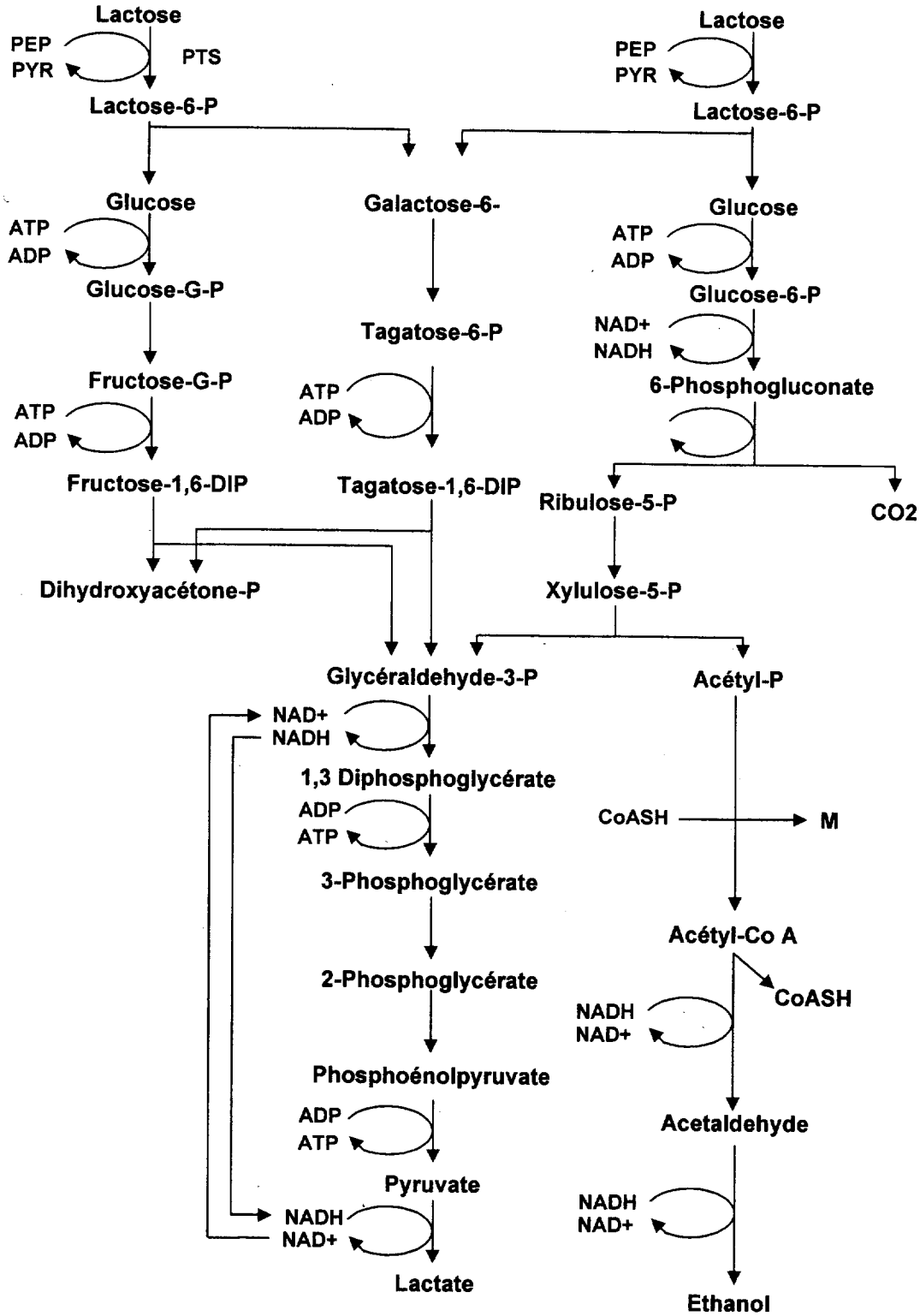
Né(e) le :

N° du candidat

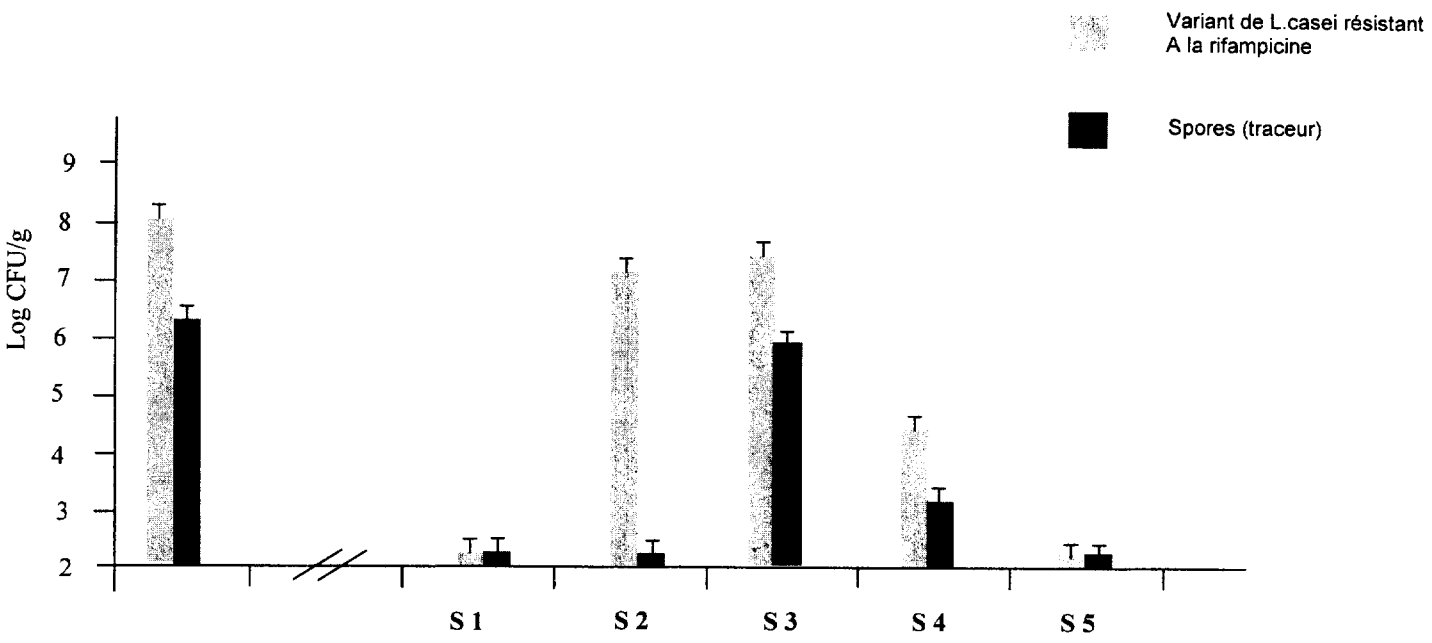
(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

* Uniquement s'il sagit d'un examen.

DOCUMENT 2 :
(à rendre avec la copie)



DOCUMENT 3 :



L. casei et spores
Dans le lait fermenté

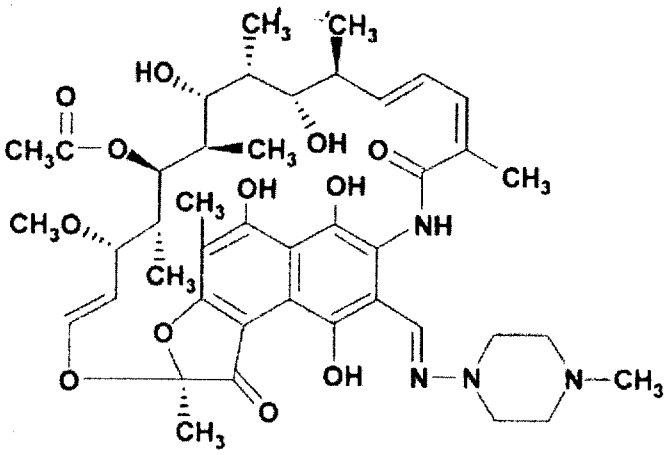
Concentrations fécales (moyenne) en L. casei et spores obtenues chez 10 volontaires après ingestion de lait fermenté selon calendrier de consommation.

Dans cette étude, les volontaires consomment par jour 300 mL de lait fermenté avec un variant résistant à la rifampicine de *Lb.casei* (et une suspension de spores qui sert de témoin) pendant 8 jours.

Pour mesurer la survie de la souche dans les fécès, celles-ci sont recueillies avant la première consommation de produit (S1), 4 jours plus tard (S2), à la fin de la période de consommation (S3) et 3 puis 7 jours après l'arrêt de la consommation (S4 et S5).

DOCUMENT 4 :

FORMULE DE RIFAMPICINE

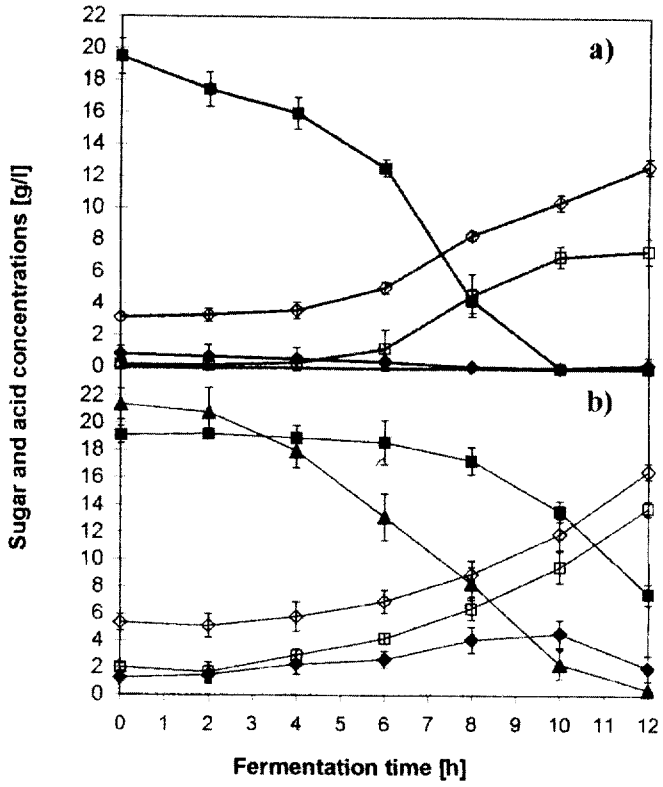


DOCUMENT 5 :

COMPOSITION DE LA GÉLOSE MRS

MRS (GELOSE) (De Man, Rogosa, Sharpe)	**(grammes/litre)**
Peptone	10,0
Extrait de viande de boeuf	8,0
Extrait de levure	4,0
Glucose	20,0
Tween 80	1,0 ml
Hydrogénophosphate de potassium	2,0
Acétate de sodium 3 H_2O	5,0
Citrate d'ammonium	2,0
Sulfate de magnésium 7 H_2O	0,2
Sulfate de manganèse 4 H_2O	0,05
Agar	10,0
pH 6,2 ± 0,2	

DOCUMENT 6 :



Lactose (▲), glucose (■), galactose (♦), lactic (□) and acetic (◊) acid concentrations determined by HPLC analysis during free-cell pH-controlled (pH=5.5) batch fermentations of *B. longum* ATCC 15707 in MRS medium (a) or in MRS-WP (b).

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.