

**Enoncé**

1. Une expérience a été menée en utilisant un inoculum de  $10^5$  cellules de *Lactobacillus sakei*, qui a été introduit dans un bouillon MRS. La culture a été incubée dans des conditions minimales, avec une température (T) de  $15^\circ\text{C}$  et un pH de 4,1. Après 12 heures, pendant la phase de croissance exponentielle, la culture a été arrêtée et la numération bactérienne a été déterminée à  $8 \times 10^5$ . Le  $G=3.5$  heures.

**Question: Demontrez qu'il existe une phase de latence et déterminez sa durée**

Pour démontrer l'existence d'une phase de latence et déterminer sa durée, on devrait suivre ces étapes:

- Calcul de la durée de la phase exponentielle:

$N_t = N_0 \times 2^{n=t/G}$ . Resolution:  $8 \times 10^5 = 10^5 \times 2^{t/G}$ . En divisant chaque côté sur  $10^5$ :  $8 = 2^{t/G}$

Sachant que  $8 = 2^3$  donc  $t/G = 3 \implies t = 3 \times G = 3 \times 3.5 = \mathbf{10.5 \text{ h.}}$  0.5 point

- Calcule de la durée de la phase de latence:

Duree de la phase de latence = Duree totale - Duree de la phase exponentielle

$= 12 - 10.5 = \mathbf{1.5 \text{ h}}$  0.5 point

2. Afin d'optimiser les deux conditions de culture de ce probiotique, la température ( $T^\circ\text{C}$ ) et le pH, une série d'expériences a été réalisée. Les résultats de l'effet de la température sont présentés ci-dessous.

T (h)		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
N - T° C- 40° C	T°	$10^5$	10	1.2	1.5	3x	6x	1.	2.	4.8	9.6	1.9	3.84	7.6	1.5	2.3 x	2.5x
	C=		*5	x	x	10*	10	2x	4x	x	x	2x	x	8x	3x	10*8	10*
	C			10*	10*	5	*5	10	10	10	10	10*	10*	10	10		7
T° C= 37° C	T°	$10^5$	10	10*	1.3	1.4	1.5	3	6	10	2.1	3.8	5.5x	10	1.5	1.7 x	1.1x
	C=		*5	5	10*	x	x	x	x	*6	x	x	10*	*7	x	10*7	x
	C				5	10*	10	10	10	10		10	10*	6	10		10*
T° C= 15° C	T°	$10^5$	10	10*	10*	10*	10	1.	1.	2.7	3.4	5.3	5.5x	5.6	5.6	3 x	1.5x
	C=		*5	5	5	5	*5	5x	9x	10	x	x	10*	10	x	10*5	x
	C							10	10	*5	10	10*	5	*5	10		10*

**Questions**

1. Que signifie le terme probiotique?

**Un probiotique est défini comme un micro-organisme, généralement des bactéries ou des levures, qui, lorsqu'il est consommé en quantités adéquates,**

confère un bénéfice pour la santé de l'hôte. **0.5 point**

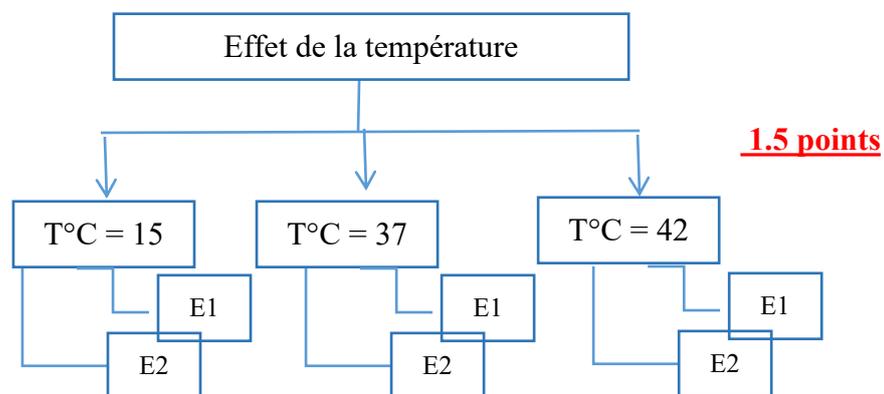
2. Si vous souhaitez utiliser ce probiotique à des fins pharmaceutiques, quels critères devriez-vous considérer pour son criblage?

Un probiotique destiné à des fins pharmaceutiques doit être soumis à une sélection conforme aux recommandations de l'OMS. Les critères de sélection sont: **0.5 point**

- Innocuité;
- Résistance à la technologie de la production;
- Sensibilité aux antibiotiques;
- Pouvoir métabolique élevé; **3 points**
- Production d'agent antimicrobien
- Implantation et capacité de s'organiser en biofilm

3. Proposer un plan expérimental pour étudier l'effet de la température sur la croissance de ce probiotique dans les conditions de cette expérience.

Une seule expérience qui concerne l'effet de la température sur le développement du germe donc on adopte le plan factoriel complet pour calculer le nombre d'essai (N).  $N_{essais} = 2^k = 2^1 = 2$  essais. L'expérience est réalisée selon le protocole:



4. Quels autres plans expérimentaux peuvent être utilisés dans le cadre de l'optimisation des conditions de culture? Définissez-les.

- **Plan factoriel fractionnaire** : Etude de l'effet de facteurs de l'environnement sur le microorganisme en l'absence d'interaction:  $k > 2$ .  $N_e = 2^{k-p}$ , soit :  $N_e$ : nombre d'essais et  $K$ : facteurs de l'environnement ( $T^\circ C$ ,  $pH \dots$ );
- **Plan composite centré** : Optimisation des conditions d'environnement (2eme degré): Prise en compte des interactions entre les différents facteurs. Le plan est composé d'un plan factoriel à 2 niveaux ( $2^k$ ) et un point central.  $N_e = 2^k + 1 + 2^k$ , soit :  $N_e$ : nombre d'essais et  $K$ : facteurs de l'environnement ( $T^\circ C$ ,  $pH \dots$ ). **1 point**

5. Représentez graphiquement l'effet des trois températures sur le **taux de croissance** et analysez la courbe. **2 points**

**Pour représenter graphiquement l'effet de la température sur le taux de croissance, on devrait calculer le  $\mu_{max}$  de chaque T°C.**

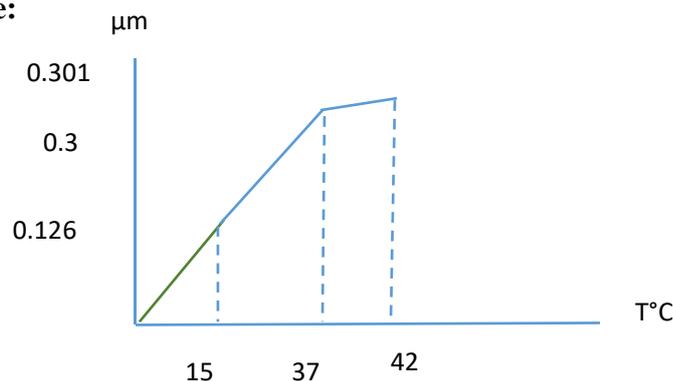
**A partir du tableau et pour chaque T°C, on devrait choisir une combinaison de deux points qui nous donne un doublement maximal:**

- Pour T°C= 40°C:  $\mu_{max} = \log N_9 - \log N_8 / t_9 - t_8$ .  $\mu_{max} = 0.301$  div/h.

- Pour T°C = 37°C:  $\mu_{max} = \log N_6 - \log N_5 / t_6 - t_5$ .  $\mu_{max} = 0.3$  div/h

- Pour T°C= 15°C:  $\mu_{max} = \log N_9 - \log N_7 / t_9 - t_7$ .  $\mu_{max} = 0.126$  div/h.

**La courbe:**



6. Cette expérience permet-elle de déterminer la température optimale de croissance de cette souche ? Si oui, représentez la courbe de croissance de cette souche à la température optimale déterminée.

**Oui cette expérience permet de déterminer la T°C optimale en se basant sur  $\mu_{max}$  et Nf, soit 40°C.** **1 points**

**La courbe: une seule courbe devrait être présentée :  $\log N = f(T°C=40)$ .** **1 point**

7. Quelle approche alternative proposeriez-vous pour l'optimisation ? Justifiez votre réponse.

**La modélisation** **0.5 point**

La modélisation permet d'estimer les paramètres dans différentes conditions expérimentales :

8. Définir le terme modélisation.

**Un procédé qui a pour but de prédire l'évolution des micro-organismes dans les aliments ou les milieux de culture synthétiques par l'utilisation des modèles mathématiques et des logiciels informatiques.** **0.5 points**

9. Décrivez les deux niveaux de la modélisation (description de l'équation de chaque niveau) .

**Niveau primaire** : Ce niveau se concentre sur l'étude de l'évolution du nombre de micro-organismes au fil du temps dans un environnement spécifique. Il est décrit par l'équation suivante :  $X(t) = f(t, q) + \epsilon t$ . **1 points**

**Niveau secondaire** : Ce niveau de modélisation consiste à établir une corrélation entre les facteurs environnementaux, tels que la température (T), le pH et d'autres variables pertinentes, et les paramètres des modèles primaires. Cette relation est exprimée par l'équation suivante :  $q = g(T, pH, \dots) + e$  **1 points**

10. Déterminer, par modélisation, les différents paramètres de la croissance de *Lactobacillus sakei* à **la température optimale** déterminée précédemment tout en ignorant les phase de freinage et de transition.

**Puisque les phase de freinage et de transition sont ignorées, les paramètres de la croissance sont:**

$N_0 = 10^5 \dots N_{max} = N_f = 2.5 \times 10^7 \dots \text{lag} = 1\text{h}$  **3 points**  
 $\mu_{max} = 0.301 \text{ div/h}$  (modele utilise est le modele exponentiel)...  $G = 3.3\text{h}$ .

11. Afin de comprendre l'effet de la température par modélisation, d'autres valeurs de température ont été étudiées : 42-45-50. Déterminer le taux de croissance à ces différentes températures et identifier celle qui permet la meilleure croissance de la souche.

**Le modèle qui devrait être proposé est le modèle secondaire (la racine carrée) car il permet l'étude des conditions de culture, cas de température, sur le  $\mu$  qui est un des paramètres de la croissance microbienne. Selon l'équation:**

$$\sqrt{\mu_{max}} = b(T_{\text{étudiée}} - T_{\text{min}}) \quad \mathbf{0.5 \text{ point}}$$

- Détermination de b entre T°C opt (40) et T°Cmin (15):  $\sqrt{\mu_{max}} = b(40 - 15) \implies b = 0.021$ .

- Calcule de  $\mu_{max}$  pour chaque T°C étudiée:

$\mu_{max}$  à 42°C =  $[0.021(42-15)]^2 = 0.321 \text{ div/h}$ ; **1.5 points**  
 $\mu_{max}$  à 45°C =  $[0.021(45-15)]^2 = 0.396 \text{ div/h}$   
 $\mu_{max}$  à 50°C =  $[0.021(50-15)]^2 = 0.54 \text{ div/h}$

Une relation proportionnelle entre la température (°C) et le  $\mu_{max}$  a été identifiée, avec une température optimale de 50 °C. **0.5 point**