

## TP 2 — Évaluation de la tolérance aux conditions gastro-intestinales simulées.

### Objectifs pédagogiques

- Simuler les conditions du tractus gastro-intestinal en laboratoire
- Quantifier la survie des souches candidates par dénombrement
- Comparer la robustesse de différentes souches probiotiques

### Protocole — Tolérance au pH acide (simulation gastrique)

1. Préparer une suspension bactérienne (densité  $\sim 10^9$  UFC/mL) dans PBS pH 7,2.
2. Transférer 1 mL dans chaque tube : PBS pH 7,2 (témoin), HCl/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 3,0, pH 2,5, pH 2,0.
3. Incubation 37°C, 1h et 3h (agitation douce 100 rpm).
4. Dilutions et dénombrement sur MRS à chaque temps.
5. Calcul du taux de survie :  $S\% = (\text{UFC après} / \text{UFC avant}) \times 100$ .

### Protocole — Tolérance aux sels biliaires

1. Préparer MRS additionné d'oxgall (bile porcine déshydratée) : 0,15 % ; 0,30 % ; 0,50 %.
2. Inoculer les souches ( $10^6$  UFC/mL) ; incubation 37°C / 4h.
3. Dénombrement ; calcul DO<sub>620nm</sub> en parallèle pour cinétique de croissance.
4. Tracer les courbes de survie et comparer les souches.

### Critères d'interprétation

- Souche probiotique viable : survie  $\geq 50\%$  à pH 3,0 après 3h ET  $\geq 50\%$  en présence de 0,3 % bile après 4h.
- Souche non retenue : survie  $< 10\%$  dans l'une ou l'autre condition.