

CHAPITRE

1

TD1 : DÉFINIR LES PARAMÈTRES DU MODÈLE DE CROISSANCE

Exercice 1 : Etude microbiologique d'un hamburger

Une enquête révèle que le hamburger d'une cantine a été conservé plusieurs jours à 5 °C, avant sa consommation. Au cours de l'étude bactériologique réalisée sur les restes de l'aliment suspect, on procède au dénombrement des bactéries aérobies psychrophiles. Pour cela, on prépare une suspension mère en broyant 10g de hamburger dans 90 mL d'eau physiologique. Puis on réalise 4 dilutions décimales en série de cette suspension. On ensemence ensuite, par 0,1mL, 2 géloses pour chaque dilution. Après 60h d'incubation, on dénombre les colonies. Les résultats sont reportés dans le tableau 2.

		Nombre de colonies
Dilution 1	Boîte 1	ND
Dilution 1	Boîte 2	ND
Dilution 2	Boîte 1	500
Dilution 2	Boîte 2	480
Dilution 3	Boîte 1	50
Dilution 3	Boîte 2	48
Dilution 4	Boîte 1	5
Dilution 4	Boîte 2	4

TABLE 1.1 – Comptage des bactéries psychrophiles

Question 1

Faites un schéma du protocole

Correction au tableau

Question 2

Calculer le nombre de bactéries aérobies psychrophiles par gramme d'aliment.

Soit N_x la quantité de UFC sur boîte dans la dilution x et C_x la concentration en UFC/mL. Soit D_x la valeur de cette dilution.

Statistiquement, les mesures sur boîtes sont utilisables entre 30 et 300 colonies sur boîtes. Les résultats de la dilution 3 rentrent dans cette consigne.

$$N_3 = \frac{48+50}{2} = 49$$

$$C_3 = \frac{N_3}{V_{\text{éposé}}} = \frac{49}{0,1} = 490 \text{ UFC/mL}$$

$$C_0 = \frac{C_3}{D_3} = \frac{490}{10^{-3}} = \frac{490}{1000} = 4,9 \cdot 10^5 \text{ UFC/mL}$$

Dans 100mL d'échantillon, il y a donc : $N_0 = C_0 * V_0 = 4,9 \cdot 10^5 * 100 = 4,9 \cdot 10^7 \text{ UFC}$ Dans cet échantillon, nous avons 10g de hamburger donc nous avons $4,9 \cdot 10^6 \text{ UFC/g}$.

Exercice 2 : Recherche de *Listeria*

Une charcuterie industrielle est inspectée par la DGCCRF. Cette dernière effectue un prélèvement d'un gramme de chair à saucisse pour réaliser une étude bactériologique. L'échantillon est broyé dans 99 mL d'eau stérile puis 2 dilutions au 10^{ème} en série sont effectuées. 0,2 mL de la dernière dilution sont étalés sur un milieu non sélectif. 45 colonies sont comptées après 48h d'incubation. Afin de déterminer si parmi ces bactéries des *Listeria* sont présentes, chacune des bactéries est inoculée sur un milieu sélectif. Seules 1/15^{ème} des colonies poussent sur ce milieu.

Question 1

Quel est le nombre de CFUs de *Listeria* par gramme de chair à saucisse ?

Soit N_x la quantité de UFC sur boîte dans la dilution x et C_x la concentration en UFC/mL. Soit D_x la valeur de cette dilution.

Statistiquement, les mesures sur boîtes sont utilisables entre 30 et 300 colonies sur boîtes. Les résultats sont conformes à ces chiffres pour les bactéries totales (45). Sur chaque boîte, 1 bactérie sur 15 est une *Listeria*, il y a donc $\frac{45}{15} = 3$ UFC de *Listeria*.

$$C_2 = \frac{N_2}{V_2 \text{éposé}} = \frac{3}{0,2} = 15 \text{ UFC/mL}$$

$$C_0 = \frac{C_2}{D_2} = \frac{15}{10^{-2}} = \frac{15}{100} = 1,5 \cdot 10^3 \text{ UFC/mL}$$

Dans 100mL d'échantillon, il y a donc : $N_0 = C_0 * V_0 = 1,5 \cdot 10^3 * 100 = 1,5 \cdot 10^5 \text{ UFC de } Listeria$

Nous avons donc $1,5 \cdot 10^5 \text{ UFC/g}$ de chair à saucisse.

Exercice 3 : Croissance d'une souche d'*Escherichia coli*

On désire étudier la croissance d'une souche d'*Escherichia coli* en milieu liquide complexe. Une culture bactérienne (50 ml de milieu dans un erlenmeyer de 250 ml, inoculus au 1/100ème avec une pré-culture en phase stationnaire) est incubée à 37°C avec agitation à 200 rpm. Toutes les 15 minutes, un aliquot de la culture est prélevé, sur lequel on effectue : une mesure de DO_{600} (le zéro du spectrophotomètre est réglé avec le milieu de culture non inoculé) ; des dilutions-étalements dans du $MgSO_4$ 10 mM (100 μ l de dilution sont étalés par boîte de LB gélosé). Les résultats sont donnés dans le tableau 4.

Temps (min)	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135
DO600	0,010	0,011	0,009	0,011	0,018	0,034	0,064	0,097	0,157	0,265
Colonies - dilution 10^{-4}	28	27	32	45	58	90	152	277	482	+++
Colonies - dilution 10^{-5}	3	2	2	4	5	10	13	29	51	103
Colonies - dilution 10^{-6}	0	0	1	0	1	1	3	2	4	12
Temps (min)	150	165	180	195	210	225	240	255	270	285
DO600	0,424	0,693	1,152	1,807	2,528	2,781	2,822	2,818	2,801	2,810
Colonies - dilution 10^{-5}	180	385	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Colonies - dilution 10^{-6}	18	34	65	116	183	318	+++	+++	+++	+++
Colonies - dilution 10^{-7}	1	3	5	11	21	32	42	43	41	43

TABLE 1.2 – Croissance d'une souche d'*Escherichia coli*

Question 1

A partir des résultats obtenus, tracer (en les superposant) les 2 courbes de croissance : $\log DO_{600} = f(t)$ et $\log UFC.ml^{-1} = f(t)$ sur papier millimétré et sur un tableur.

Question 2

Commentez les aspects des deux courbes et leurs différences éventuelles.

Question 3

Calculez les différents temps de génération, taux de division (taux de croissance horaire) et taux de croissance spécifique.

Temps de génération

C'est le temps pour doubler la population en phase exponentielle soit entre 75mn et 180 mn pour la courbe en DO. Sur cette courbe on peut calculer le temps de génération G.

$$Xt = Xo * 2^n \rightarrow \log(Xt) = \log(Xo * 2^n) \leftrightarrow \log(Xt) = \log(Xo) + n * \log(2) \quad (1.1)$$

$$\leftrightarrow n = \frac{\log(Xt) - \log(Xo)}{\log(2)} \quad (1.2)$$

or

$$G = \frac{t}{n} \rightarrow G = \frac{t * \log(2)}{\log(Xt) - \log(Xo)}$$

(1.3)

Ici on a $t = 180 - 75 = 105$ $Xo = 0,034$ et $Xt = 1,152$ donc :

$$G = \frac{105 * \log(2)}{\log(1,152) - \log(0,034)} = 20,65mn = 0,34h \quad (1.4)$$

A partir de la courbe en UFC.ml⁻¹, on prend entre 75 mn et alors $Xo = 9.10^6$ et 210 mn et $Xt = 1,83.10^9$ donc :

$$G = \frac{135 * \log(2)}{\log(1,83.10^9) - \log(9.10^6)} = 18,59mn = 0,31h \quad (1.5)$$

taux de croissance horaire : k : $k = \frac{1}{G}$ avec G en heures donc pour la mesure de DO on trouve $k = 2,9h^{-1}$ Pour la mesure d'UFC, on trouve : $k = 3,2h^{-1}$

taux de croissance népérien ou spécifique : μ : $\mu = \frac{\ln 2}{G}$ donc pour la mesure de DO on trouve $\mu = 0,33mn^{-1}$ Pour la mesure d'UFC, on trouve : $\mu = 0,37mn^{-1}$

Question 4

Comparez les titres à : 90 et 105 minutes ; 225 et 285 minutes. Les différences observées vous paraissent-elles significatives ?

Question 5

Au bout de combien de temps vous attendriez-vous avoir une population d'environ 10^8 UFC.ml⁻¹ si l'on inoculait une nouvelle culture dans les mêmes conditions à partir de bactéries prélevées à : 285 minutes ? 120 minutes ?

A 285mn, on est en état stationnaire, nous allons donc avoir une phase de latence 30mn. On inocule au 1/100 donc à $4,3.10^7$ UFC/ml

$$t = \frac{(\log(Xt) - \log(Xo)) * G}{\log(2)} = \frac{(\log(1.10^8) - \log(4,3.10^7)) * 18,59}{\log(2)} = 22mn \quad (1.6)$$

Il faudra donc en tout 52mn si on prend la population à 285mn.

Par contre si on part d'une population en phase exponentielle à 120mn il n'y a pas de phase de latence, par contre on part d'une inoculation à $5,1 \cdot 10^5$ UFC/ml

$$t = \frac{(\log(Xt) - \log(Xo)) * G}{\log(2)} = \frac{(\log(1.10^8) - \log(5,1 \cdot 10^5)) * 18,59}{\log(2)} = 141mn \quad (1.7)$$

Temporary page!

\LaTeX was unable to guess the total number of pages correctly. As there was some unprocessed data that should have been added to the final page this extra page has been added to receive it.

If you rerun the document (without altering it) this surplus page will go away, because \LaTeX now knows how many pages to expect for this document.