CHAPITRE

1

CORRECTION EXERCICES DE COURS

Exercice 1 : Étude de l'eau d'une rivière

A. Énoncé

Afin d'analyser la contamination biologique d'une eau de rivière, des dilutions en cascade de cette eau dans une eau physiologique stérile sont réalisées :

- Dilution 1 : 10 mL d'eau de rivière + 90 mL d'eau physiologique stérile

- Dilution 2 : 1 mL de la dilution 1 + 9 mL d'eau physiologique stérile

- Dilution 3 : 1 mL de la dilution 2 + 9 mL d'eau physiologique stérile

- Dilution 4 : 2mL de dilution 3 + 9 mL d'eau physiologique stérile

- Dilution 5 : 0,1 mL de la dilution 4 + 0,9 mL d'eau physiologique stérile

Pour chacune de ces dilutions (1 à 5), on prélève 0,1 mL qu'on étale sur un milieu de culture solide en boîte de pétri. Au bout de 24h, on compte le nombre de colonies sur chaque boîte. Les résultats sont présentés dans le tableau 1.

n^0 de dilution	1	2	3	4	5
Dilution par étape (d_x)					
Dilution globale D_x					
nombre de colonies	ND	350	79	25	3

TABLE 1.1 – Comptage des bactéries viables dans une eau de rivière

Question 1

Faites un schéma du protocole et complétez le tableau 1

Question 2

Déterminer le nombre de CFUs dans les 100mL d'échantillon d'eau de rivière en tenant compte de toutes les mesures

Question 3

Pensez-vous que le nombre de bactéries viables dans l'échantillon initial est identique, ou plus ou moins important que le nombre de CFUs que vous avez calculé ?

B. Correction

Question 1

Déterminer le nombre de CFUs dans les 100mL d'échantillon d'eau de rivière en tenant compte de toutes les mesures

n^0 de dilution	1	2	3	4	5
Dilution par étape (d_x)	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
Dilution globale D_x	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
nombre de colonies	ND	350	79	25	3

TABLE 1.2 – Comptage des bactéries viables dans une eau de rivière

Soit N_x la quantité de UFC sur boîte dans la dilution x et C_x la concentration en UFC/mL. Soit Dx 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. Les dilutions 2 et 4 sont proches de ces conditions également et nous pouvons faire une moyenne de ces résultats obtenus.

$C_3 = \frac{N_3}{V_{déposé}} = \frac{79}{0,1} = 790\ UFC/mL$
$C_0 = \frac{C_3}{D_3} = \frac{79}{10^{-3}} = \frac{790}{1000} = 7,9.10^5\ UFC/mL$
Dans 100mL d'eau de rivière, il y a donc : $N_0 = C_0 * V_0 = 7,9.10^5 * 100 = 7,9.10^7\ UFC$

Question 2

Pensez-vous que le nombre de bactéries viables dans l'échantillon initial est identique, ou plus ou moins important que le nombre de CFUs que vous avez calculé ?

Les CFUs calculées sont les bactéries qui ont pû être cultivées c'est-à-dire qui sont viables et cultivables. Certaines espèces peuvent ne pas être cultivables sur le milieu utilisé. L'eau de rivière contient à priori plus de bactéries viables que ce qui est calculé.

Exercice 2 : Croissance d'une souche d'Acetobacter

A. énoncé

A partir des données du tableau situé sous cet encart, tracez la courbe de croissance en échelle logarithmique, déterminez le taux de croissance népérien ainsi que le temps de génération.

TABLE 1.3 – Croissance d'une souche d'*Acetobacter*

t (heures)	N	t (heures)	N	t (heures)	N	t (heures)	N
0	10^5	5	$2{,}51.10^5$	10	$1{,}51.10^7$	15	$5{,}01.10^7$
1	10^5	6	$5{,}75.10^5$	11	$2{,}51.10^7$	16	$5{,}25.10^7$
2	10^5	7	1,32.106	12	$3{,}63.10^7$	17	$5{,}25.10^7$
3	10^5	8	$3{,}02.10^6$	13	$4{,}17.10^7$		
4	$1{,}38.10^5$	9	$6{,}92.10^6$	14	$4{,}57.10^7$		

B. Correction

Afin de tracer la courbe il faut calculer le logarithme népérien de la quantité de biomasse puis tracer la courbes. IL y a trois outils pour cela qui peuvent être combinés selon les besoins :

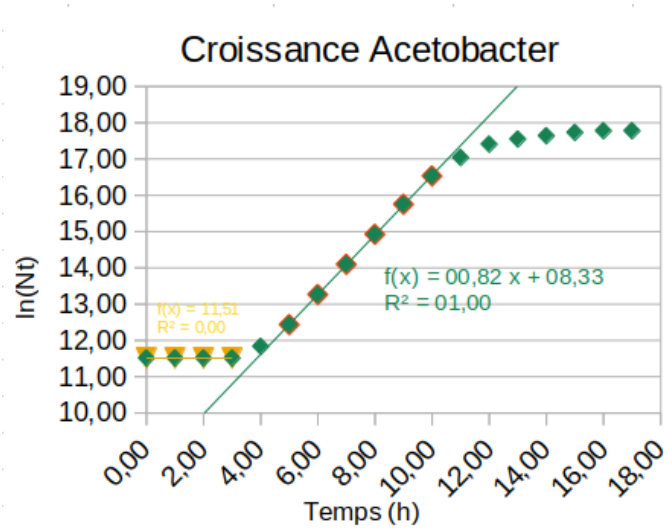
- Réaliser l'ensemble du travail sur une feuille de papier et un papier millimétré : exigé à l'examen et en TD
- Réaliser l'ensemble du travail sur une calculatrice graphique : permise à l'examen mais ne peux pas être rendue à l'enseignant
- Réaliser l'ensemble du travail sur un tableur : attendu en TP et TD

Vous allez utiliser les trois méthodes de façon à pouvoir utiliser tous les outils sont vous aurez besoin.

a. Obtention des résultats *via* un tableur

TABLE 1.4 – Croissance d'une souche d'*Acetobacter*

t (heures)	ln(N)	t (heures)	ln(N)	t (heures)	ln(N)	t (heures)	ln(N)
0	11,51	5	12,43	10	16,53	15	17,73
1	11,51	6	13,26	11	17,04	16	17,78
2	11,51	7	14,09	12	17,41	17	17,78
3	11,51	8	14,92	13	17,55		
4	11,84	9	15,75	14	17,64		



Le fichier du tableur est disponible sur moodle. Sur le tableur la droite moyenne de la phase exponentielle a été calculée à partir des points obtenus entre 5h et 10h de croissance. D'après le modèle de Buchanan, cette pente est égale au taux de croissance népérien $\mu = \frac{ln2}{G}$ avec G temps de génération (cf encart si dessous). Nous avons donc $\mu = 0,82\ h^{-1}$ et $G = fracln2\mu = fracln20,82 = 0,84\ h{-}1$. Le temps de génération est donc de 50mn $(0,84 * 60)$.

le r vous donne les cohérence sur modèle utilisé par rapport aux données. Il doit être inférieur à 0,95 sinon cela signifie que le modèle mathématique choisi n'est pas le bon.

$$Xt = Xo * 2^n \tag{1.1}$$

$$\leftrightarrow \ln(Xt) = \ln(Xo) + n * \ln(2) \tag{1.2}$$

$$n = \frac{t}{G} \leftrightarrow \ln(Xt) = \ln(Xo) + \frac{t * \ln(2)}{G} \tag{1.3}$$

$$\leftrightarrow \ln(Xt) = \ln(Xo) + \frac{\ln(2)}{G} * t \tag{1.4}$$

Soit $\mu = \frac{\ln(2)}{G}$**, le taux de croissance népérien de la souche**.

$$\leftrightarrow \ln(Xt) = \ln(Xo) + \mu * t \tag{1.5}$$

b. Obtention des résultats *via* à la main

Pour **tracer un graphique sur papier millimétré**, il faut d'abord prévoir son échelle. Pour cela, vous devez prendre la plus grande valeur de x (temps) et la plus grande valeur de y (ln(Nt)) et les placer au nombre de carreaux pertinents. Par exemple, il est possible de partir sur une base de temps simple soit 20 carreaux pour 20h ou 10 carreaux pour 20h. Pour l'ordonnée, la même échelle peut être appliquée ici.

Vous pouvez **calculer la pente** à partir de deux points : par exemple le point A (5 ;12,43) et le point B (10 ;16,53) :

$pente = \frac{y_1 - y_B}{x_A - x_B} = \frac{12,43 - 16,53}{10 - 5} = 0,82$

Ce n'est pas une pente moyenne car tous les points ne sont pas utilisés. Pour avoir une pente moyenne, il faut calculer la pente entre tous les points de la phase exponentielle puis faire la moyenne des valeurs de pentes obtenues. Cela est nécessaire en TP pour des valeurs expérimentales imparfaites.

Pour calculer, ordonnée à l'origine, vous pouvez prendre un point A(5 ;12,43) :

$o.o = y_A - pente * x_A = 12,43 - 5 * 0,82 = 8,3$

Ce n'est pas non plus une ordonnée à l'origine moyenne. Pour avoir une ordonnée à l'origine moyenne, il faut faire ce calcul pour tous les points expérimentaux en phase exponentielle et en faire la moyenne.

c. Obtention des résultats *via* à la calculatrice graphique

Les calculatrices graphiques proposent des calculs statistiques.

Chez casio, c'est dans le menu d'accueil. Vous entrez les abscisses et les ordonnées dans le tableau puis vous choisissez $y = ax + b$ en dessous. Vous pouvez ensuite choisir le test de regression linéaire pour obtenir les valeurs de x, y et r. Comme avec le tableur le r vous donne les cohérence sur modèle utilisé par rapport aux données. Il doit être inférieur à 0,95 sinon cela signifie que le modèle mathématique choisi n'est pas le bon.

Chez texas, c'est une touche "STAT". Il vous est ensuite proposé "edit", "calc" ou "test". Dans "Edit", vous entrez les valeurs des abscisses et des ordonnées. Puis vous retournez dans le menu "Stat" et choisissez "test". De nombreux tests statistiques sont proposés. Vous prenez reglintest (c'est un des derniers) pour obtenir les valeurs de x, y et r. Comme avec le tableur le r vous donne les cohérence sur modèle utilisé par rapport aux données. Il doit être inférieur à 0,95 sinon cela signifie que le modèle mathématique choisi n'est pas le bon.

Exercice 3 : Calcul de la DLC d'une compote de fruits

A. Énoncé

Une compote de fruit est contaminée par *Bacillus cereus* à 1 spore/g. La Dose Minimale infectieuse (DMI) est de 10^5 spores par gramme. Le modèle primaire utilisé est :

$$X_t = X_0 \times \exp(\mu \times (t))$$

et le modèle secondaire est :

$\sqrt{\mu} = 0,03 \times T$ avec T en °C et μ en h^{-1}

Question 1

Remplissez le tableau

TABLE 1.5 – Tableau des valeurs

Étape	Température (°C)	μ	Durée (j)	X_0	X
Usine	3		2		
Détaillant	4		2		
Consommateur	7				DMI

Question 2

Si la Date Limite de Consommation du produit doit être 3 jours avant d'atteindre cette DMI. Pendant combien de temps le consommateur peut consommer la compote ?

B. Correction

Question 1

Remplissez le tableau

Pour calculer le **taux de croissance**, il faut partir du modèle secondaire :

$$\sqrt{\mu} = 0,03 \times T \text{ donc } \mu = (0,03 \times T)^2$$

par exemple pour une température de 3 °C

$$\mu = (0,03 \times 3)^2 = 0,0081$$

Pour calculer, le nombre de bactéries X à la fin d'une étape, il faut utiliser le modèle primaire :

$$X_t = X_0 \times \exp(\mu \times (t))$$

$$X_t = 1 \times \exp(0,00818) = 1,47 spores/g$$

Pour calculer le temps chez le consommateur, le modèle primaire est encore utilisé :

$$X_t = X_0 \times \exp(\mu \times (t))$$

$$\text{donc } \frac{X}{X_0} = \exp(\mu \times (t))$$

$$\text{donc : } \ln(\frac{X}{X_0}) = \mu \times (t))$$

$$\text{donc : } t = \frac{\ln(\frac{X}{X_0})}{\mu}$$

$$\text{soit : } t = \frac{\ln(\frac{10^5}{2,95})}{0,044} = 236,5h = 10 \text{ jours}$$

TABLE 1.6 – Tableau des valeurs

Étape	Température (°C)	μ	Durée (j)	X_0	X
Usine	3	0,0081	2	1	1,47
Détaillant	4	0,0144	2	1,47	2,944
Consommateur	7	0,0441	10	2,944	10^5

Question 2

Si la Date Limite de Consommation du produit doit être 3 jours avant d'atteindre cette DMI. Pendant combien de temps le consommateur peut consommer la compote ?

Le consommateur peut consommer pendant 7 jours.

Exercice 4 : Inactivation de levures par la température

A. Énoncé

Une culture de levure en phase stationnaire est répartie dans 6 tubes à hémolyse (500 μ L par tube). Toutes les deux minutes un prélèvement des tube est transféré dans la glace. Après une dilution à demi dans le bleu de funk, les cellules vivantes sont comptées en cellule de Mallassez (4 rectangles à raison de 10 μL de mélange par rectangle). Les résultats sont présentés dans le tableau situé sous l'encart. Calculer et présenter sous forme de tableau (tableur-grapheur) :(chaque calcul étant justifié par l'équation aux grandeurs et aux unités)

- la concentration en nombre CN(levures vivantes) en levures/mL-1
- le nombre total de levures vivantes dans les 4 rectangles de comptages
- la concentration en nombre CN(levures vivantes ; suspension avant autoclavage) en levures/mL-1 en effectuant les calculs dans les cellules du tableur)
- le logarithme décimal de la concentration en nombre de levures (en effectuant les calculs dans les cellules du tableur)
- le facteur de réduction de la population (par rapport à la concentration initiale).

TABLE 1.7 – Résultat du comptage des levures en cellule de Mallasez

durée de chauffage (min)	2	4	6	8	10	12
Levures vivantes comptée	110	89	61	48	32	20

B. Correction

Une culture de levure en phase stationnaire est répartie dans 6 tubes à hémolyse (500 μ L par tube). Toutes les deux minutes un prélèvement des tubes est transféré dans la glace. Après une dilution à demi dans le bleu de funk, les cellules vivantes sont comptées en cellule de Mallassez (4 rectangles à raison de 10 μL de mélange par rectangle).

durée de chauffage (min)	2	4	6	8	10	1
Levures vivantes comptée	110	89	61	48	32	2
Volume compté (mL)	0,04	0,04	0,04	40,04	0,04	0,0
Facteur de Dilution	2	2	2	2	2	2
CN (levure par mL)	5500	4450	3050	2400	1600	10
log(CN)	3,74	3,648	3,48	3,38	3,20	3
facteur de réduction de la population (%)	0	19	0,445454545454545 56	70	81	

TABLE 1.8 – Résultat du comptage des levures en cellule de Mallassez

Question 1

Justifier la nécessité de conserver les suspensions dans la glace :

— durant la manipulation ;

— immédiatement après le traitement thermique.

La mise immédiate dans la glace arrête l'effet de la température au temps voulu. Sans cela, la destruction des levures serait maintenue pendant un temps non connu.

Question 2

Calculer et présenter sous forme de tableau (tableur-grapheur) :(chaque calcul étant justifié par l'équation aux grandeurs et aux unités)

— la concentration en nombre CN(levures vivantes) en levures/mL-1 :
$CN = \frac{Nlevure*facteurdedilution}{nbrectangle*volumerectangle}$

— le logarithme décimal de la concentration en nombre de levures (en effectuant les calculs dans les cellules du tableur) cf tableau

— la concentration en nombre CN(levures vivantes ; suspension avant autoclavage) en levures/mL-1 en effectuant les calculs dans les cellules du tableur)
L'équation de la droite logarythmique est $log(N_t) = -k * t + log(N_0)$ et ici l'équation trouvée est : $y = 0,073t + 3,9$:
donc $log(N_0) = 3,9$ donc $N_0 = 10^{3,9} = 7943$ levures par mL.

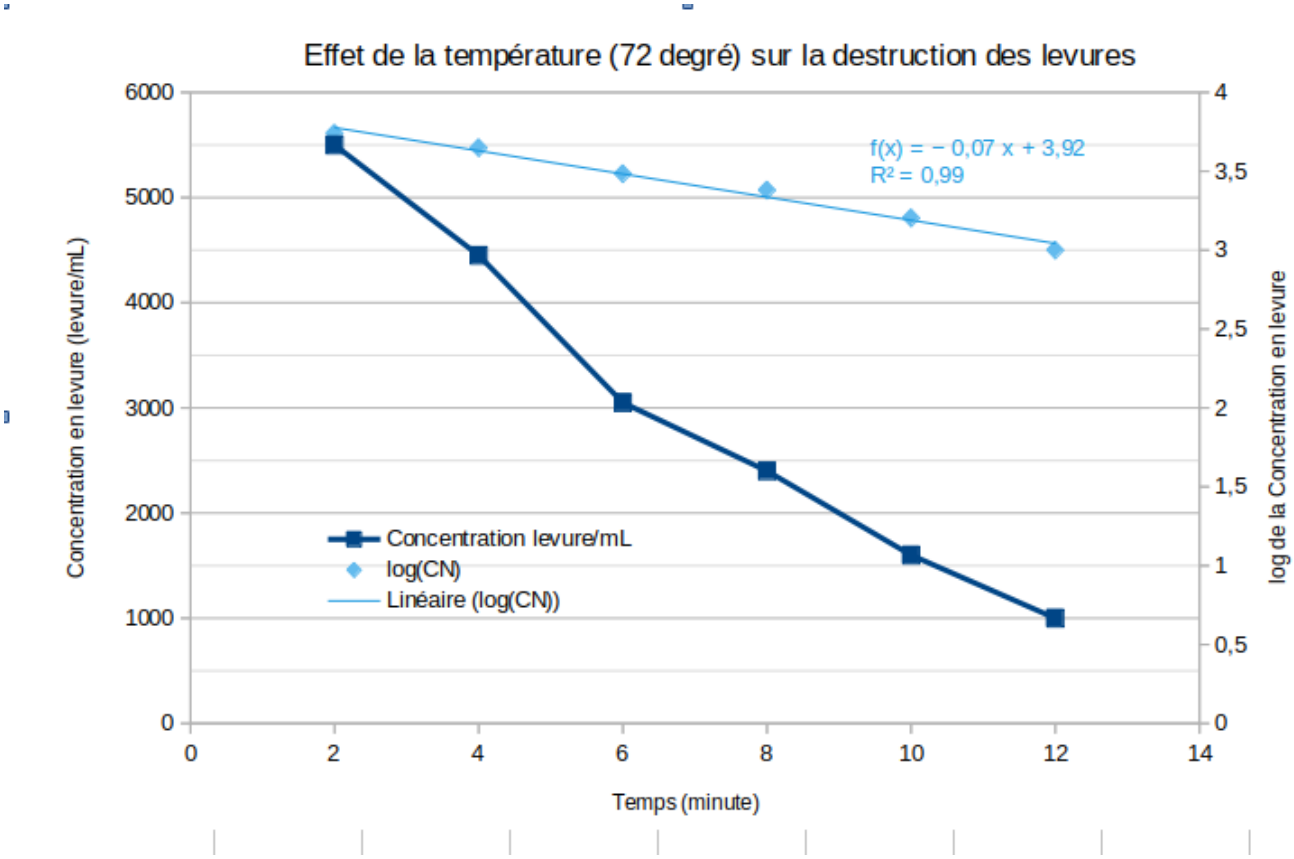
— le facteur de réduction de la population (par rapport à la concentration initiale).
Facteur de réduction : $Fac = \frac{X_0 - Xt}{X_0}$

Question 3

A l'aide du tableur, créer un graphe montrant simultanément :

— le nuage de points : CN(levures vivantes ; suspension) = f(temps)

— le nuage de points : LogCN(levures vivantes ; suspension) = f(temps) (une droite devrait être obtenue)



Question 4

Déterminer le temps de réduction décimal D_T qui correspond au temps nécessaire pour tuer 90 % des micro-organismes d'une population dans un échantillon à une température spécifique, ce qui correspond à une réduction d'un facteur 10 de CN soit une unité Log(CN) la population microbienne.

$log(CN_1) = -k * t_1 + log(CN_0)$ et $log(CN_2) = -k * t_2 + log(CN_0)$

$log(CN_1) - log(CN_2) = -k * t_1 + log(CN_0) + k * t_2 - log(CN_0)$

$log(CN_1) - log(CN_2) = -k * t_1 + k * t_2 = -k \times (t_2 - t_1)$

or si $t_1 - t_2 = D_T$ alors $CN_2 = 0,1 \times CN_1$

donc $log(\frac{CN1}{0,1 \times CN1}) = k \times D_T$

donc $log(10) = k \times D_T$

ici d'après l'équation $k = 0,07$ donc $D_T = \frac{log(10)}{0,07} = 14,3$ minutes.