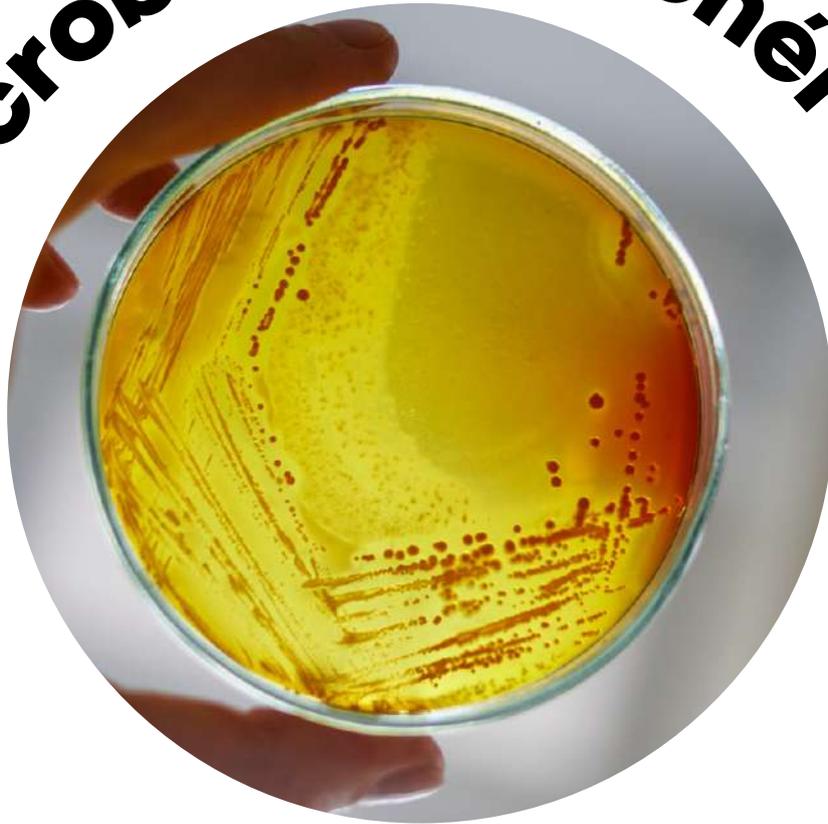


Microbiologie Générale



SCIENCES DE LA
VIE



Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



Etudier



Visiter [Biologie Maroc](#) pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.



Emploi



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE

Microbiologie générale

SVI. (S3)

TD 3 Croissance bactérienne

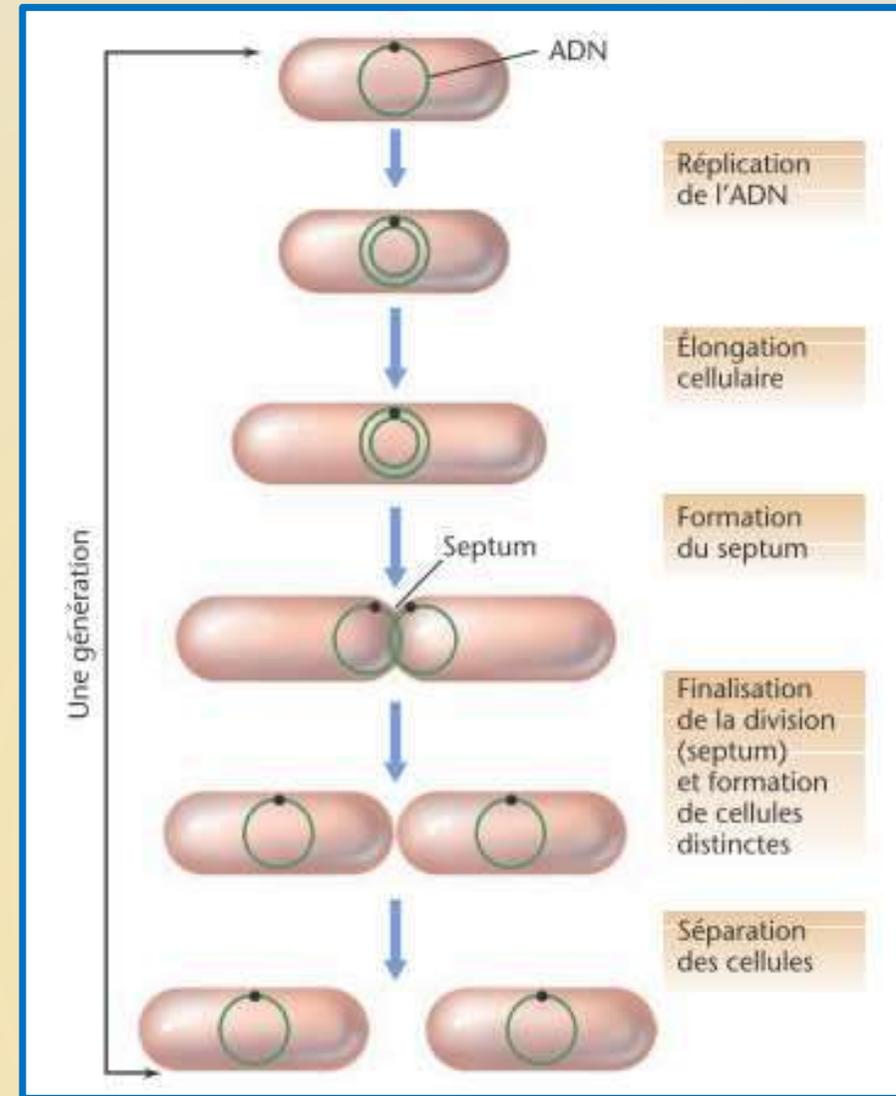


2016-2017

Pr. S.BOUHDID

Croissance bactérienne

- La **croissance** bactérienne est définie comme l'**augmentation** du **nombre** de cellules d'une population.
 - Les bactéries se reproduisent par **fission binaire** (scissiparité).
- ↓
- Une** cellule bactérienne se divise en **deux** cellules filles **identiques**.



Mesure de la croissance bactérienne

Dénombrement des cellules

- ✓ Méthode hématimétrique
- ✓ Numération sur lame
- ✓ Compteur de particules
- ✓ Dénombrement après culture en milieu solide

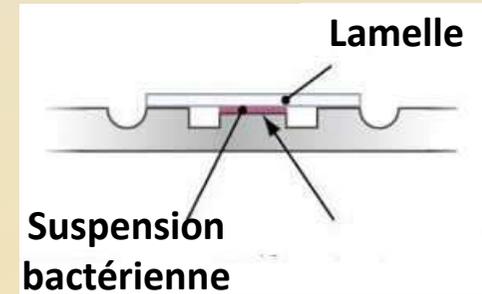
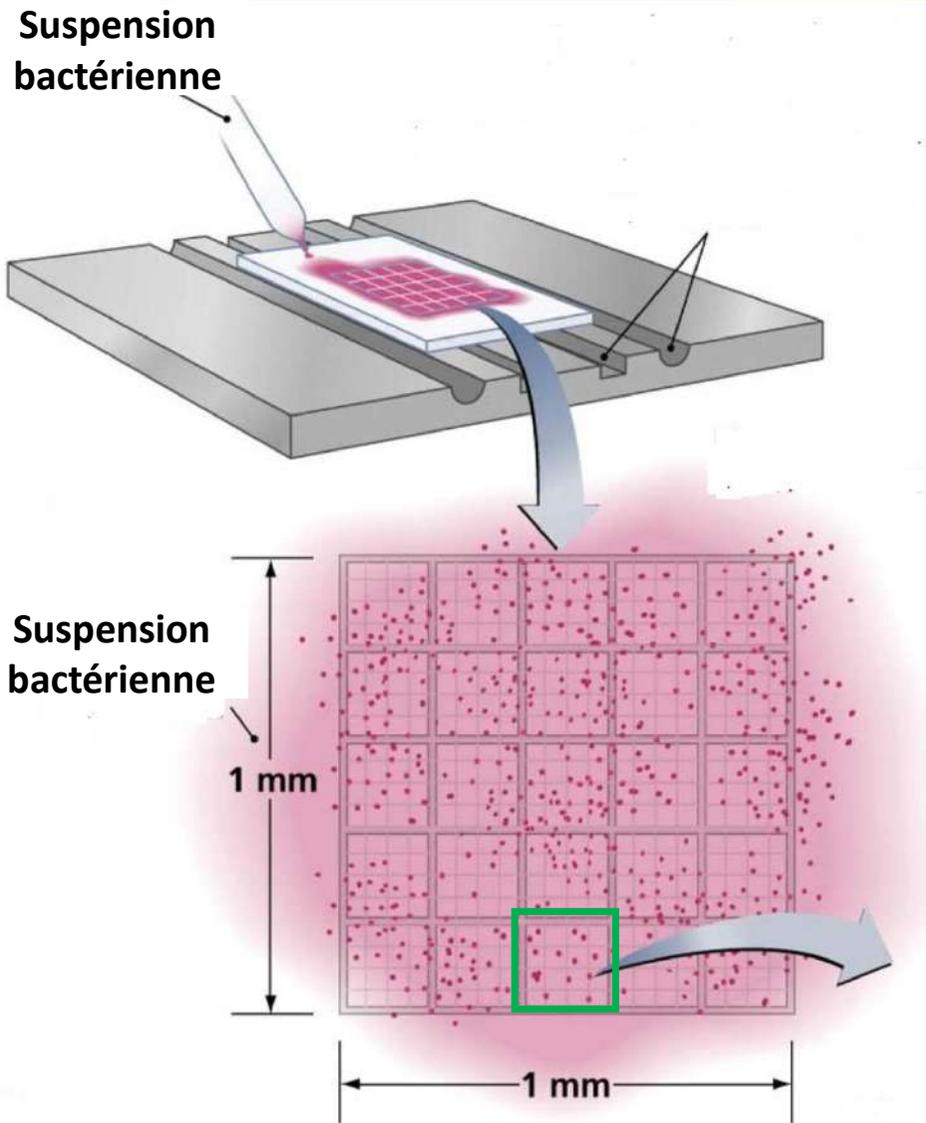
Mesures indirectes

- ✓ Détermination du poids sec des bactéries
- ✓ Opacimétrie (mesure du trouble)
- ✓ Mesure des constituants cellulaires
- ✓ Mesure de la production de la chaleur
- ✓ Modification du milieu

Méthode hématimétrique: cellule de Petroff-Hausser



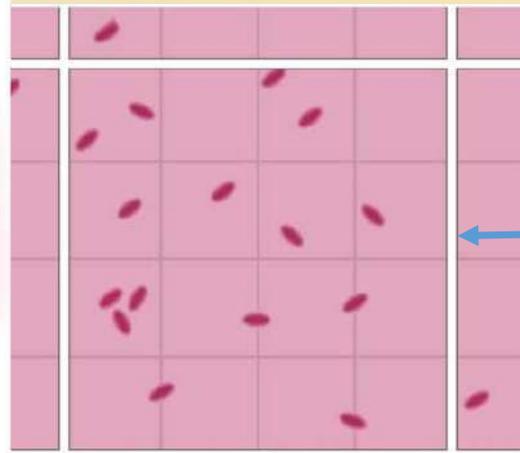
Méthode hématimétrique: cellule de Petroff-Hausser



Vue de profil

L'espace entre la cellule et la lamelle est de **0,02 mm**.

L'ensemble de la cellule comprend **25 carrés de grande taille** représentant une aire de 1 mm^2 , soit un volume de $0,02 \text{ mm}^3$

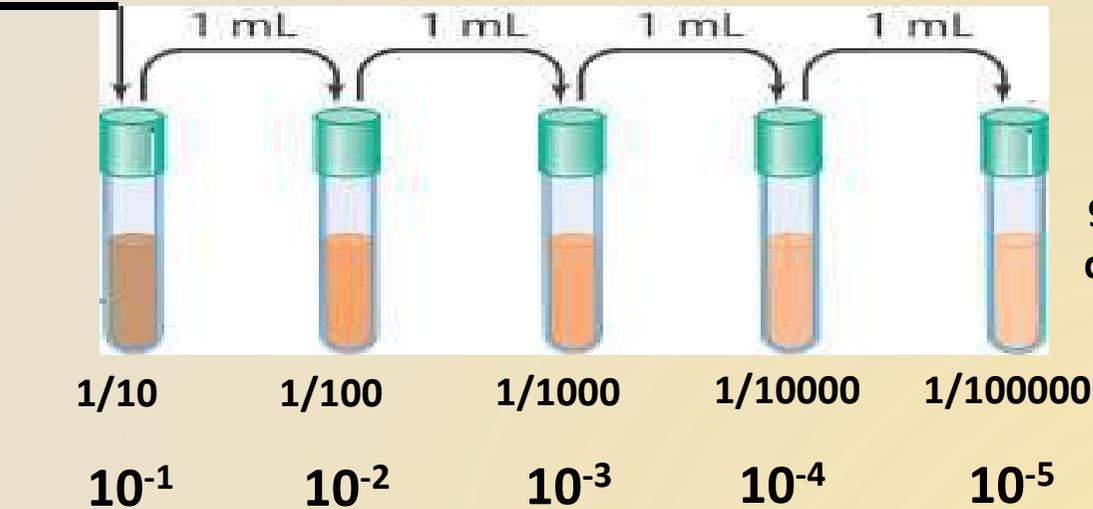


Carré de grande taille

Le nombre de cellules est compté dans **un carré de grande taille**.

Plusieurs carrés sont pris en compte et une moyenne est calculée.

Dénombrement après culture en milieu solide



9 ml du milieu de dilution par tube

Préparation des dilutions



Ensemencement et incubation



Dénombrement des colonies

Dénombrement impossible

Retenir les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies

Dénombrement après culture en milieu solide

- Chaque **colonie** dénombrée provient soit d'une cellule isolée soit de cellules en agrégats. on parle d'une **Unité Formant Colonie (UFC)**.
- Le résultat est exprimé en **UFC/ml**

$$N = \frac{\sum C}{V \times d \times n}$$

N: nombre d'unités formant colonie par ml
(UFC/ml)

$\sum C$: somme des colonies dénombrées sur les
boites retenues

V: volumeensemencé par boite

d: dilution retenue

n: nombre de boites retenues

Exercice 1

L'analyse bactériologique d'une urine infectée donne le tableau de résultats suivant:

Dilution	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
Essai 1	inc	490	95	2
Essai 2	inc	501	110	0
Essai 3	inc	520	120	5

Sachant que l'on aensemencé 0,1 ml de chaque dilution par boîte de milieu de culture,

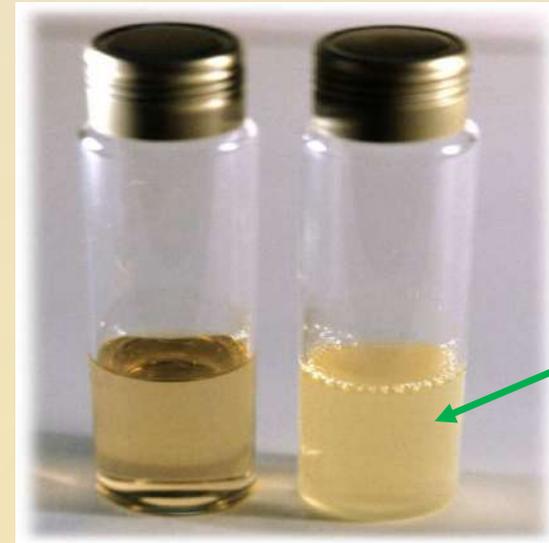
- quelle dilution doit-on utiliser pour réaliser le dénombrement ?
- déterminez le nombre d'unités formant colonie par ml d'urine.
- Le dénombrement bactérien sur le même échantillon d'urine, par la méthode directe au microscope optique, a donné $15 \cdot 10^5$ bactéries par ml, comparer les deux résultats et interpréter.

Exercice 2

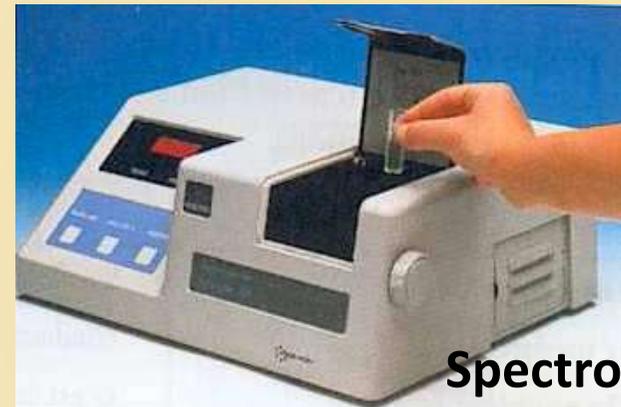
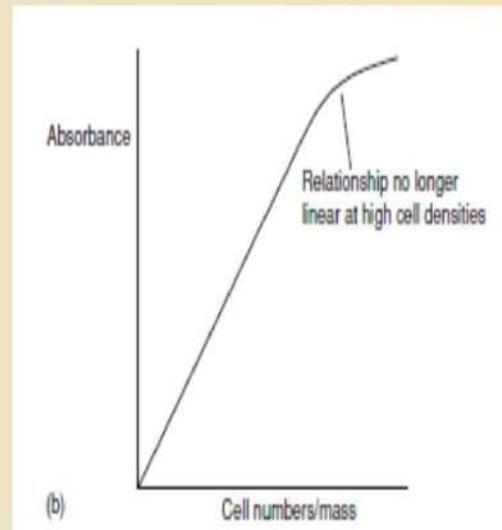
Le nombre de UFC par millilitre d'une culture bactérienne est de 35×10^8 . Etant donné que le dénombrement sur une boîte de milieu gélosé inoculé par 10 microlitres d'une dilution de la culture bactérienne est de 35, quelle est la dilution utilisée pour le calcul total?

Opacimétrie (mesure du trouble)

- Croissance = Trouble
- Quantifier la **croissance** bactérienne en mesurant l'**absorbance** par spectrophotométrie.
- L'**absorbance** est directement **proportionnelle** au **nombre de bactéries** par unité de volume.
- Pour des **concentrations** en cellules **élevées**, il **n'y a plus de relation linéaire** entre concentration cellulaire et absorbance.



Culture bactérienne



Spectrophotomètre

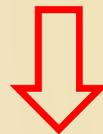
Croissance en milieu non renouvelé

Bactéries
+
Milieu de culture liquide



Incubation dans des conditions
optimales de croissance

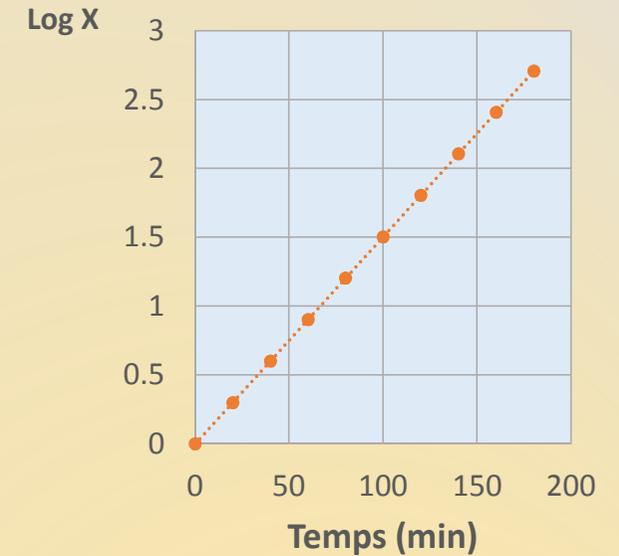
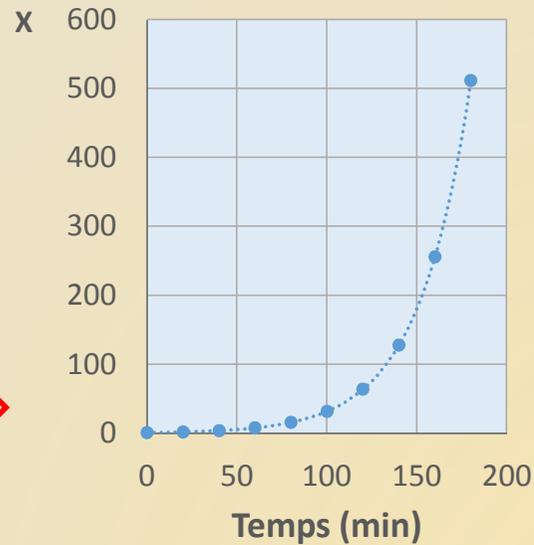
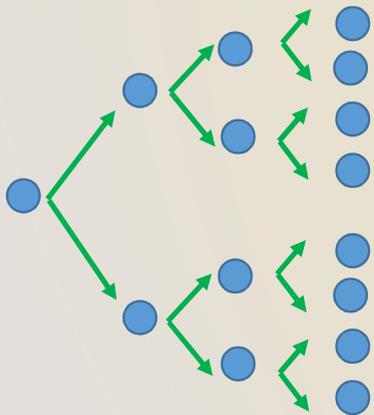
Suivre l'évolution du nombre de bactéries (**X**) en
fonction du temps (**T**)



Tracer la courbe de croissance **$X = f(T)$**

Croissance en milieu non renouvelé

Temps (min)	Nombre de divisions (n)	Nombre de bactéries (X)	log X
0	0	1	0
20	1	2	0.30103
40	2	4	0.60205999
60	3	8	0.90308999
80	4	16	1.20411998
100	5	32	1.50514998
120	6	64	1.80617997
140	7	128	2.10720997
160	8	256	2.40823997
180	9	512	2.70926996



- Nombre de bactéries (X)
- Log X
- Expon. (Nombre de bactéries (X))
- Linéaire (Log X)

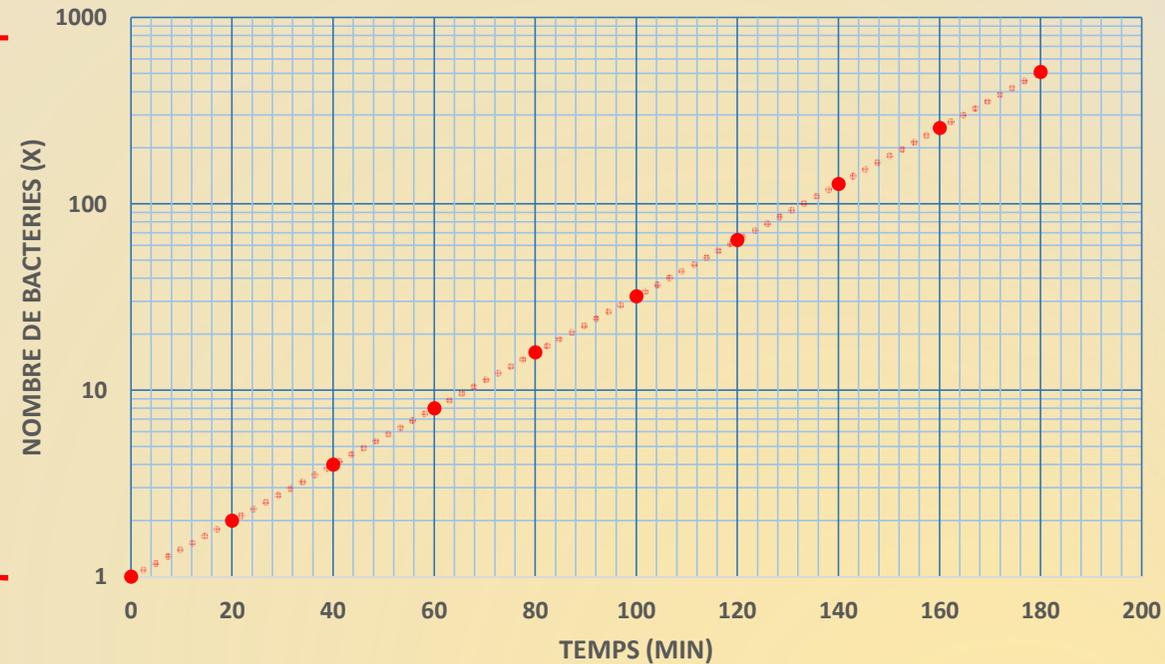
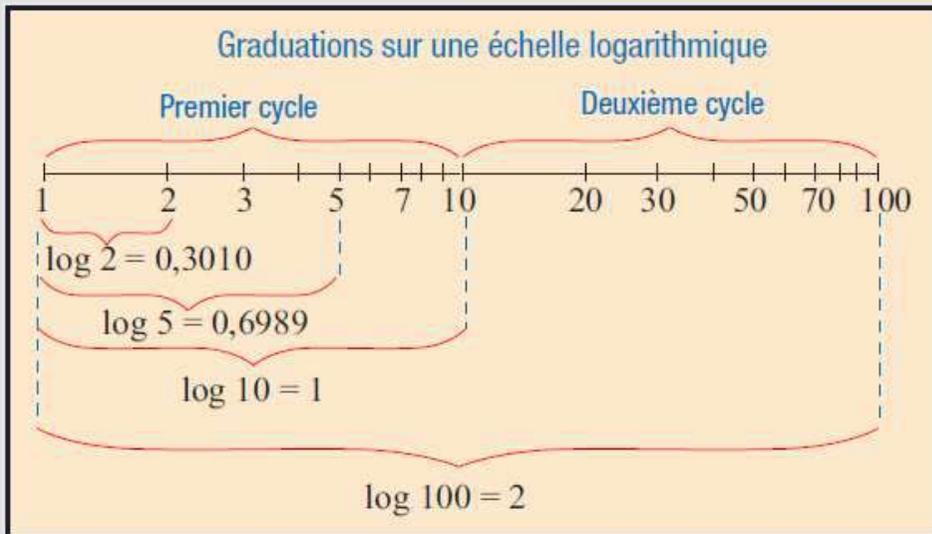
X augmente de façon **exponentielle** en fonction du temps

log X augmente de façon **linéaire** en fonction du temps

Croissance en milieu non renouvelé

La linéarité peut être obtenue en utilisant une **échelle logarithmique** pour les valeurs de **X** (utilisation du papier semi-logarithmique).

Échelle logarithmique



Échelle arithmétique

Echelle logarithmique

Lorsqu'on veut représenter une évolution avec une **très grande différence entre les valeurs**, l'échelle arithmétique (linéaire) est mal adaptée. On lui préfère une **échelle logarithmique** qui espace les valeurs faibles et rapproche les valeurs fortes.

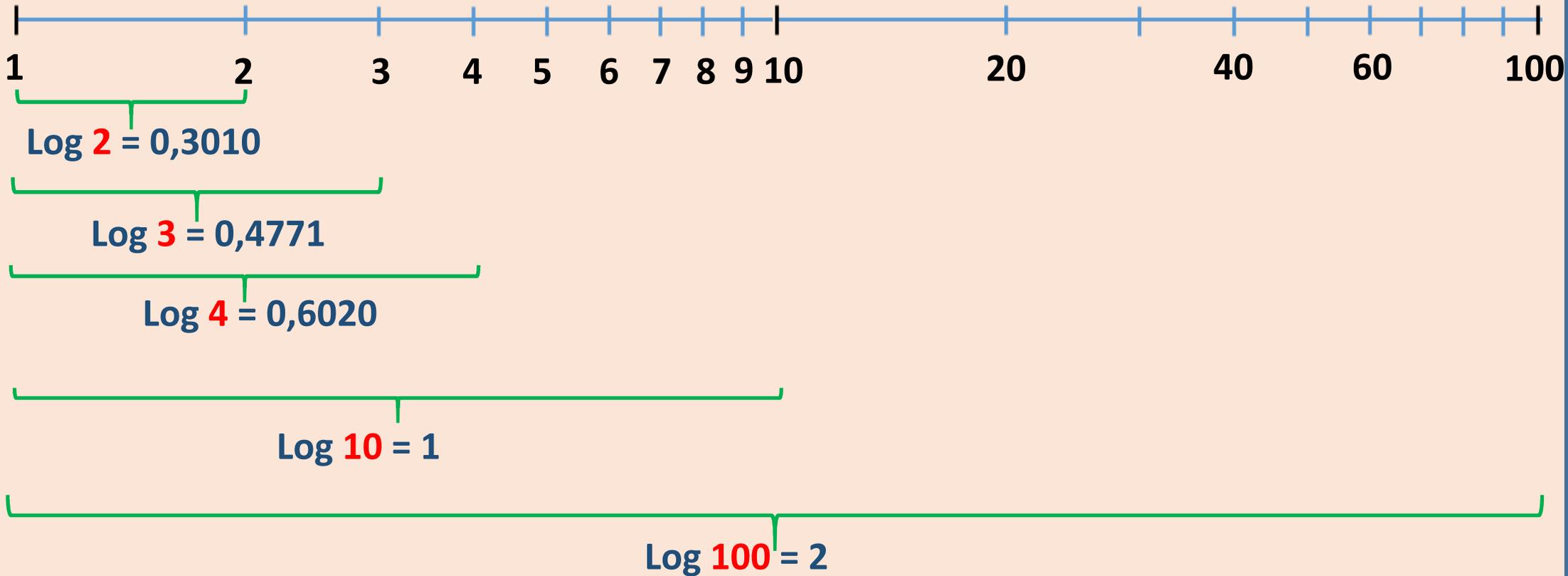
- Pour l'**échelle linéaire**, deux graduations dont la **différence** vaut **10** sont à **distance constante**.
- Pour l'**échelle logarithmique**, deux graduations dont le **rapport** vaut **10** sont à **distance constante**.

Une **échelle logarithmique** est une échelle sur laquelle la **position d'un nombre** par rapport à l'origine est proportionnelle au **logarithme de ce nombre**.

Echelle arithmétique

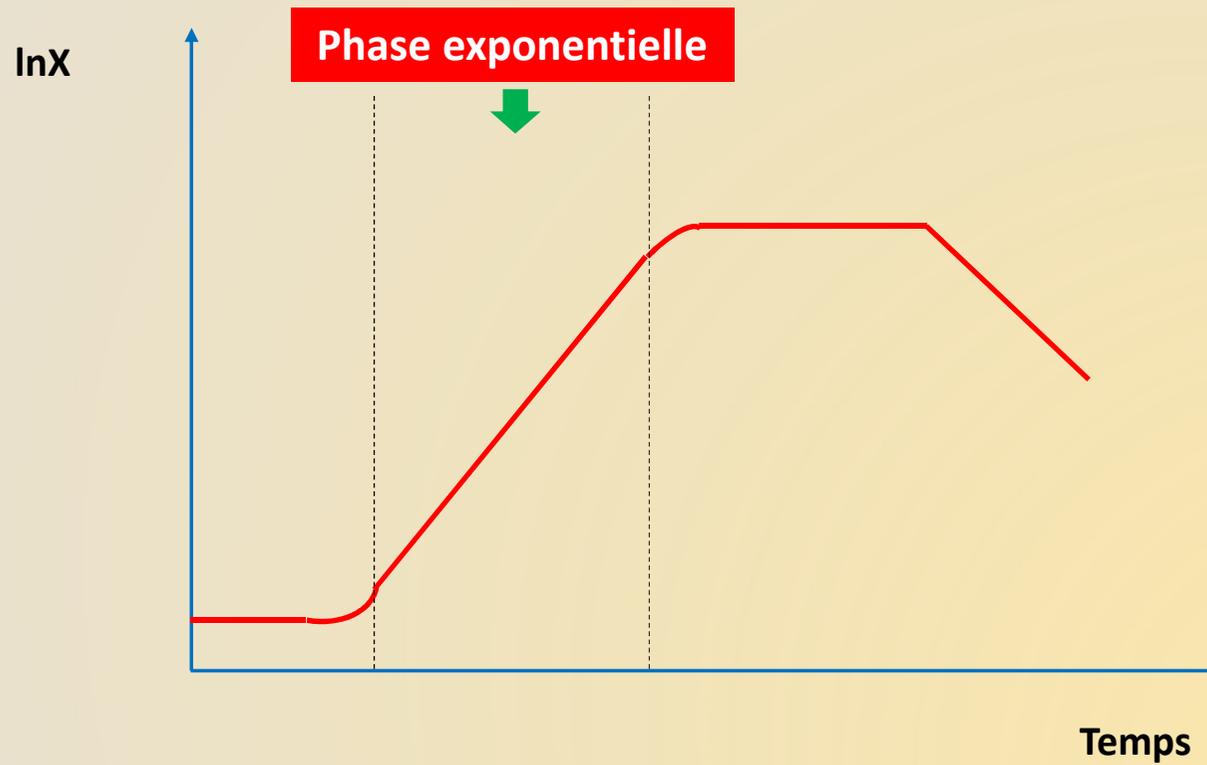


Echelle logarithmique



Croissance en milieu non renouvelé

Courbe de croissance

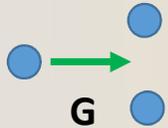


Croissance en milieu non renouvelé

Paramètres de croissance:

Temps de génération (G)

- temps nécessaire au doublement du nombre de bactéries
(passer de X à $2X$)



$$G = \frac{T}{n}$$

T: temps de croissance

n: nombre de divisions (générations) pendant le temps T

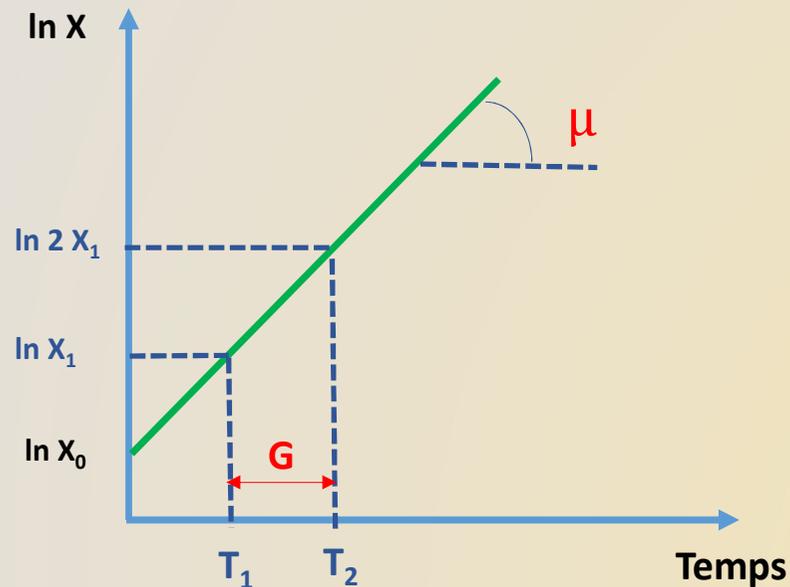
Taux de croissance népérien (μ)

- Vitesse spécifique de croissance

$$\mu = \frac{\ln 2}{G}$$

NB: Ces deux paramètres sont calculés pendant la **phase exponentielle** de croissance

Expression mathématique de la croissance en milieu non renouvelé



$$\ln X = \mu T + \ln X_0$$

d'où

$$X = X_0 e^{\mu T}$$

X : nombre de bactéries au temps T
 X_0 : nombre de bactéries au temps 0



Le taux de croissance népérien:

$$\mu = \frac{\ln X - \ln X_0}{T}$$

NB: Expression mathématique de la **phase exponentielle** de croissance

Expression mathématique de la croissance en milieu non renouvelé

Conversion au logarithme décimal

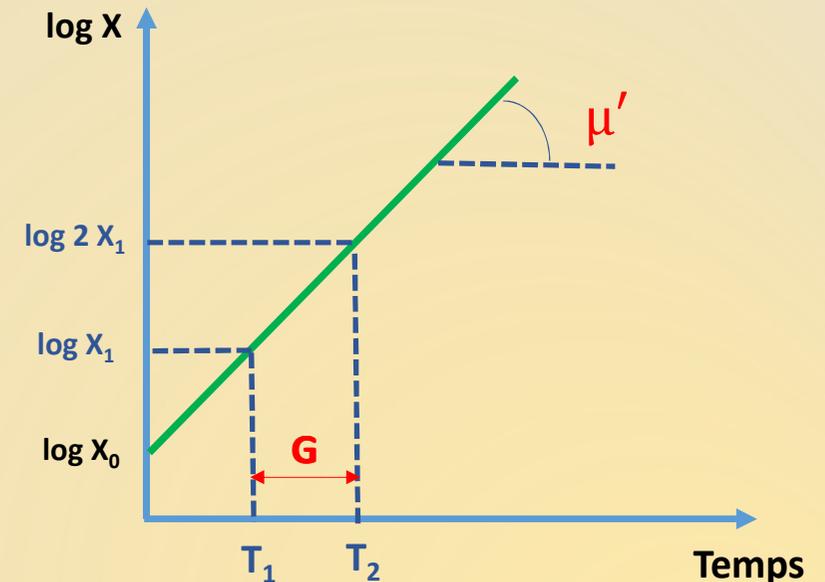
$$\ln X = \mu T + \ln X_0$$

devient

$$\log X = \mu' T + \log X_0$$

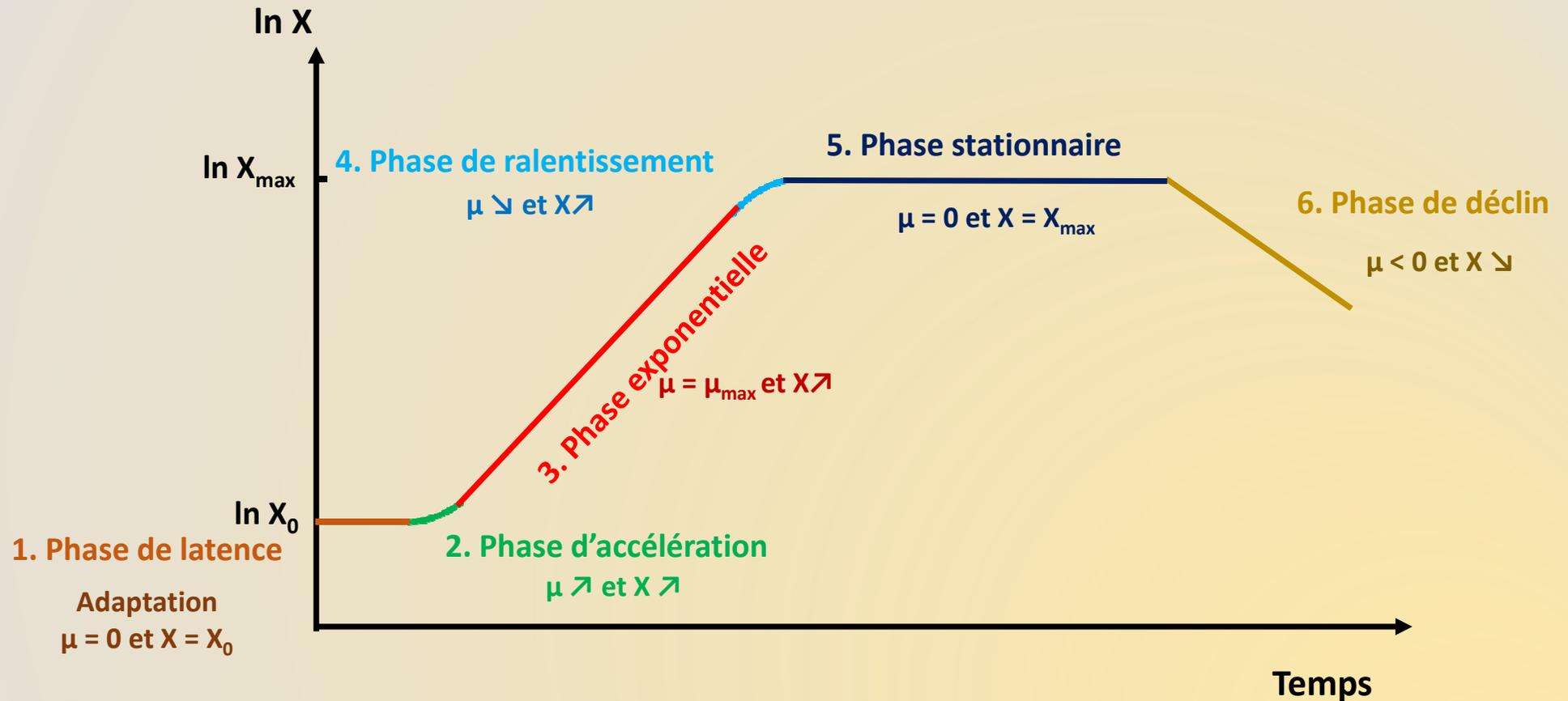


$$\mu = 2,302 \mu'$$



NB: Expression mathématique de la **phase exponentielle** de croissance

Courbe de croissance en milieu non renouvelé



Courbe de croissance en milieu non renouvelé

Phénomène de diauxie

Exemple :

E. coli

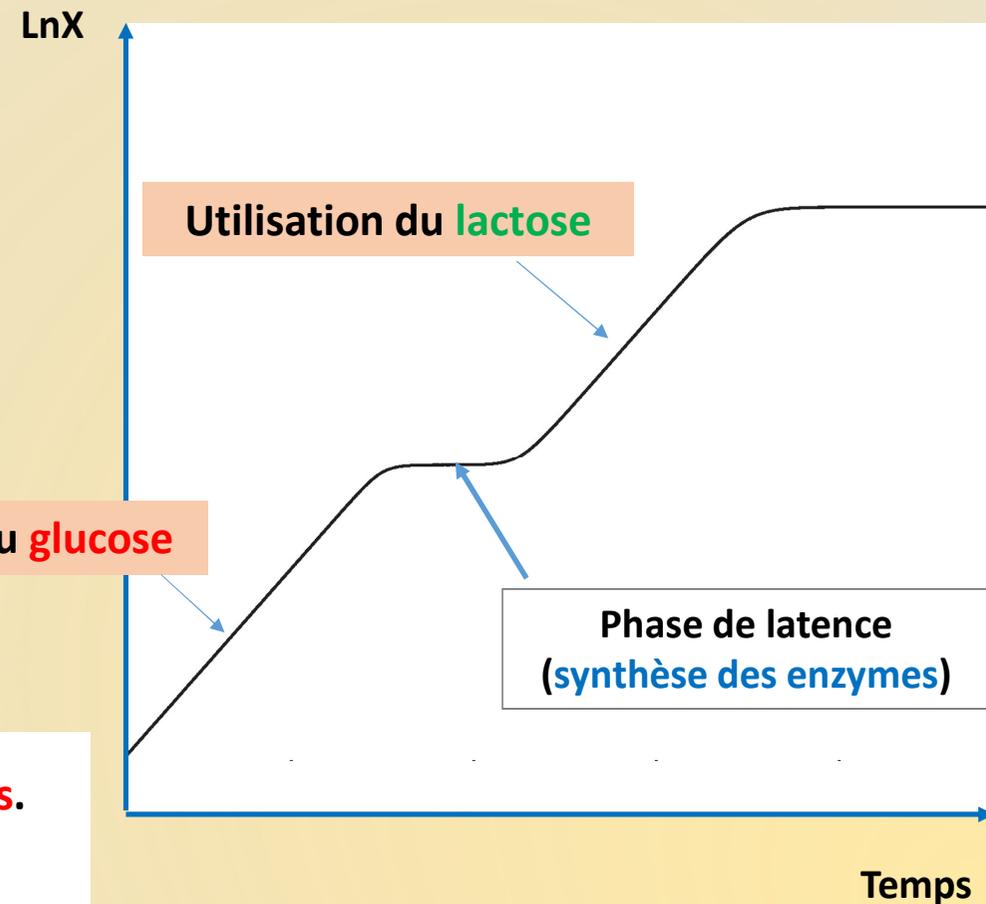
+

Milieu synthétique
contenant **glucose** et
lactose



Deux phases exponentielles séparées
par une phase de latence

Utilisation du **glucose**



- Les enzymes du catabolisme du **glucose** sont **constitutives**.
- Les enzymes du catabolisme du **lactose** sont **inductibles**.

Exercice

On étudie la croissance d'une souche bactérienne en milieu non renouvelé. La souche est cultivée dans un milieu liquide contenant les substrats appropriés pour sa croissance. Le tableau ci-dessous donne le nombre de bactéries par unité de volume (X) à différents temps de culture.

Temps (h)	Nombre de bactéries /ml (X)
0	10^5
1	10^5
2	10^5
3	10^5
4	$1,38 \cdot 10^5$
5	$2,51 \cdot 10^5$
6	$5,75 \cdot 10^5$
7	$1,32 \cdot 10^6$
8	$3,02 \cdot 10^6$
9	$6,92 \cdot 10^6$
10	$1,51 \cdot 10^7$
11	$2,51 \cdot 10^7$
12	$3,63 \cdot 10^7$
13	$4,17 \cdot 10^7$
14	$4,57 \cdot 10^7$
15	$5,01 \cdot 10^7$
16	$5,25 \cdot 10^7$
17	$5,25 \cdot 10^7$

1. Tracer la courbe de croissance $\ln X = f(T)$. Justifier le choix de l'ordonnée $\ln X$ plutôt que X .
2. Indiquer sur cette courbe les différentes phases de croissance.
3. Calculer la vitesse de croissance spécifique (μ) de la souche étudiée.

Temps (h)	Nombre de bactéries /ml (X)
0	10^5
1	10^5
2	10^5
3	10^5
4	$1,38 \cdot 10^5$
5	$2,51 \cdot 10^5$
6	$5,75 \cdot 10^5$
7	$1,32 \cdot 10^6$
8	$3,02 \cdot 10^6$
9	$6,92 \cdot 10^6$
10	$1,51 \cdot 10^7$
11	$2,51 \cdot 10^7$
12	$3,63 \cdot 10^7$
13	$4,17 \cdot 10^7$
14	$4,57 \cdot 10^7$
15	$5,01 \cdot 10^7$
16	$5,25 \cdot 10^7$
17	$5,25 \cdot 10^7$

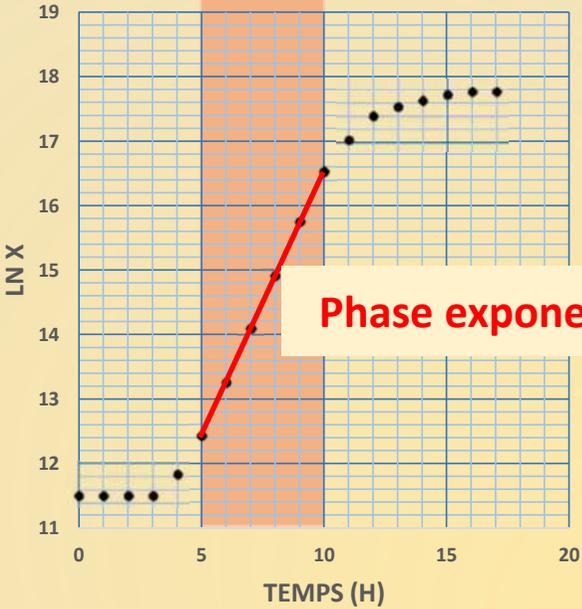
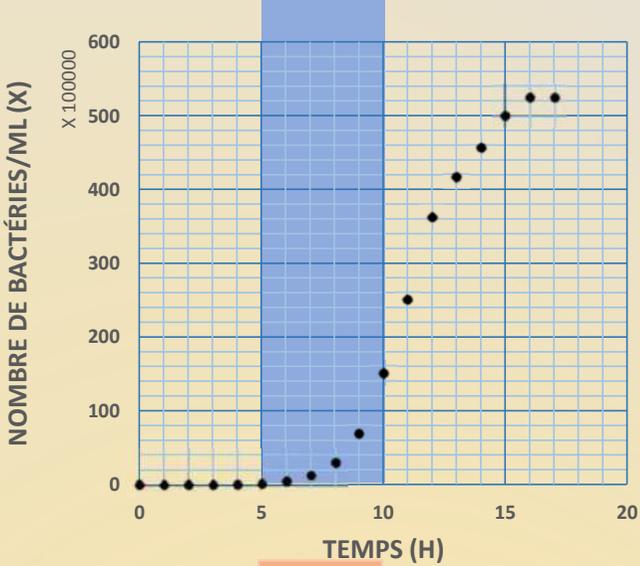
$X = f(T)$



$\log X = f(T)$



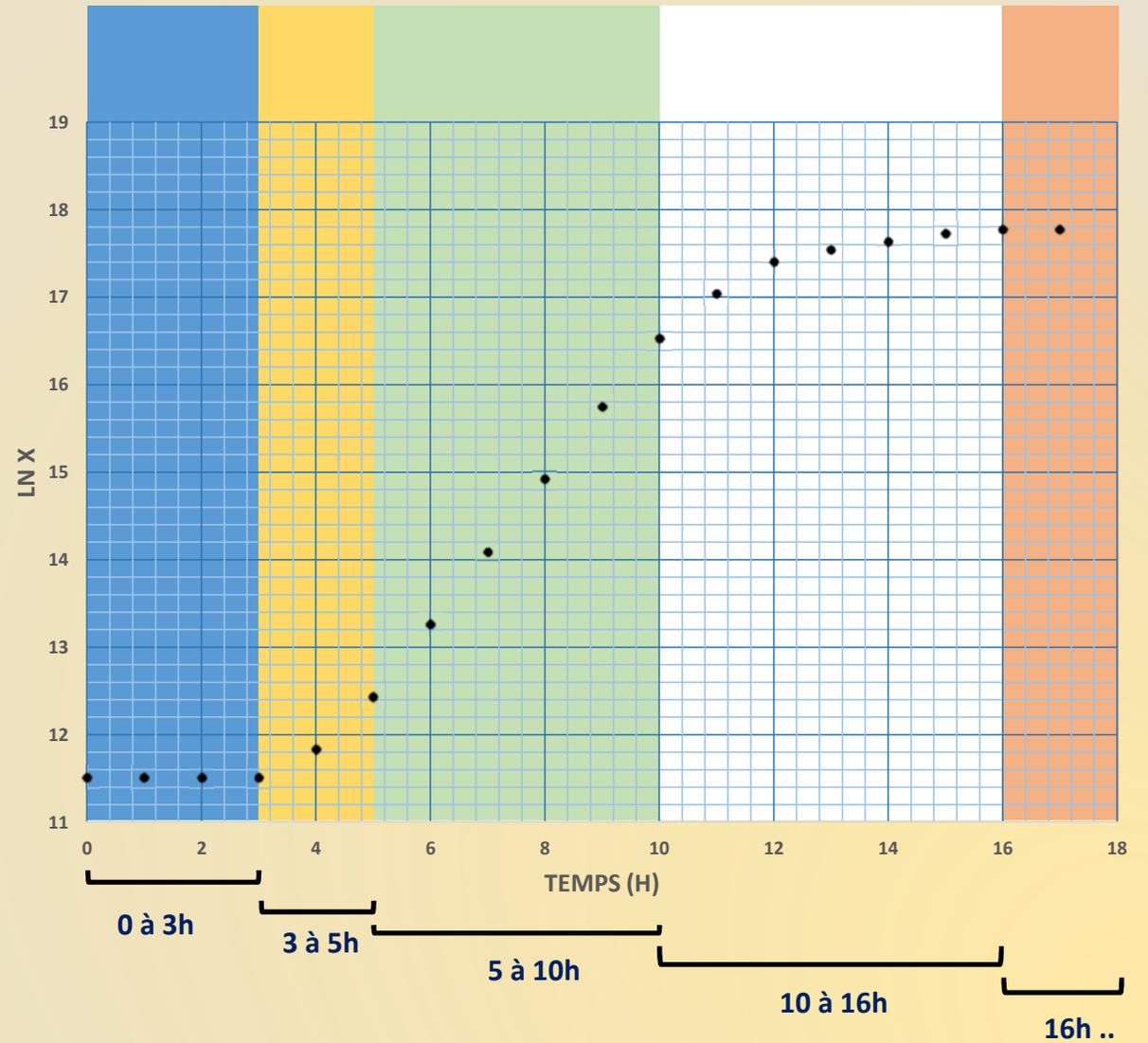
Echelle arithmétique



1. Le choix de **lnX** (ou logX) s'impose dans la mesure où l'on veut **linéariser** en courbe la **phase exponentielle** de croissance afin de pouvoir **en tirer les paramètres** caractérisant la croissance (temps de génération et taux de croissance).

2.

- ✓ Phase de latence: de 0 à 3h.
- ✓ Phase d'accélération: de 3h à 5h.
- ✓ Phase exponentielle: de 5h à 10h
- ✓ Phase de ralentissement: de 10h à 16h
- ✓ Phase stationnaire: à partir de 16h



3. Sur la courbe de croissance $\ln X = f(T)$, la phase exponentielle de croissance correspond à une droite. Le taux de croissance népérien (μ) représente le coefficient directeur de cette droite. Il peut donc être calculé en utilisant la formule suivante :

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{T_2 - T_1}$$

$(T_1, \ln X_1)$ et $(T_2, \ln X_2)$ étant les coordonnées de deux points de la droite.

On va prendre : $X_1 = 2,51 \cdot 10^5$ à $T_1 = 5\text{h}$ et $X_2 = 1,51 \cdot 10^7$ à $T_2 = 10\text{h}$

$$\mu = \frac{16,53 - 12,43}{10 - 5}$$



$$\mu = 0,82 \text{ h}^{-1}$$

Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

