

## CULTURE DES MICRO-ORGANISMES EN MILIEU LIQUIDE NON RENOUVELÉ

### EXERCICES D'APPLICATION

#### Exercice n°1 :

La confection d'un certain nombre de milieux de culture (M1, M2, M3 et M4) a permis de définir les exigences nutritionnelles de *Lactobacillus casei*.

La composition des milieux est indiquée dans le tableau suivant:

Ingrédients	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>
<b>COMMUNS :</b>				
Eau	1 litre	1 litre	1 litre	1 litre
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g	1 g	1 g	1 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	200 mg	200 mg	200 mg	200 mg
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
CaCl <sub>2</sub>	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
Sels (Mn, Mo, Cu, Co, Zn)	0,02 à 0,05 mg de chacun			
<b>AJOUTÉS :</b>				
Extrait de levure				5 g
Glucose		5 g	5 g	5 g
NH <sub>4</sub> Cl	1 g	1 g	1 g	
Acide folique			0,1 mg	
Pyridoxal			0,1 mg	

**Q1.** *Lactobacillus casei* ne cultive que sur milieu M4. Expliquer ce phénomène.

Un inoculum de 10<sup>6</sup> cellules de *Lactobacillus casei* est incubé dans le milieu M4 au temps  $t = 0$ .

On dénombre après 15 heures, alors que la phase exponentielle de croissance n'est pas achevée, une population de  $6,4 \cdot 10^7$  cellules. Le temps de génération moyen est de 1 heure et 40 minutes.

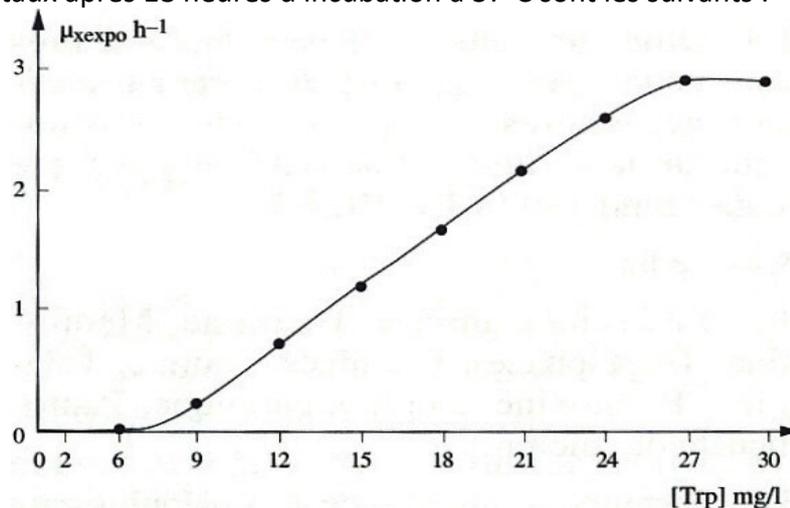
**Q2.** Déterminer le taux de croissance,  $\mu_{x\text{ expo}}$ .

**Q3.** Démontrer l'existence d'une phase de latence et donner sa durée.

#### Exercice n°2 :

On détermine le taux de croissance d'une souche de *Salmonella typhimurium* dans un milieu de culture additionné de solutions de tryptophane (Trp) de concentrations croissantes.

Les résultats expérimentaux après 18 heures d'incubation à 37°C sont les suivants :



**Q1.** Commenter cette courbe.

On reproduit l'expérience dans les mêmes conditions en remplaçant la solution de tryptophane ( $1 \text{ mL}^{-1}$  par tube) par  $1 \text{ mL}^{-1}$  d'un hydrolysât protéique.

En phase exponentielle de croissance on dénombre :

- au temps 6 heures :  $6,31 \cdot 10^6$  bactéries par  $\text{mL}^{-1}$ .
- au temps 8 heures :  $8,47 \cdot 10^7$  bactéries par  $\text{mL}^{-1}$ .

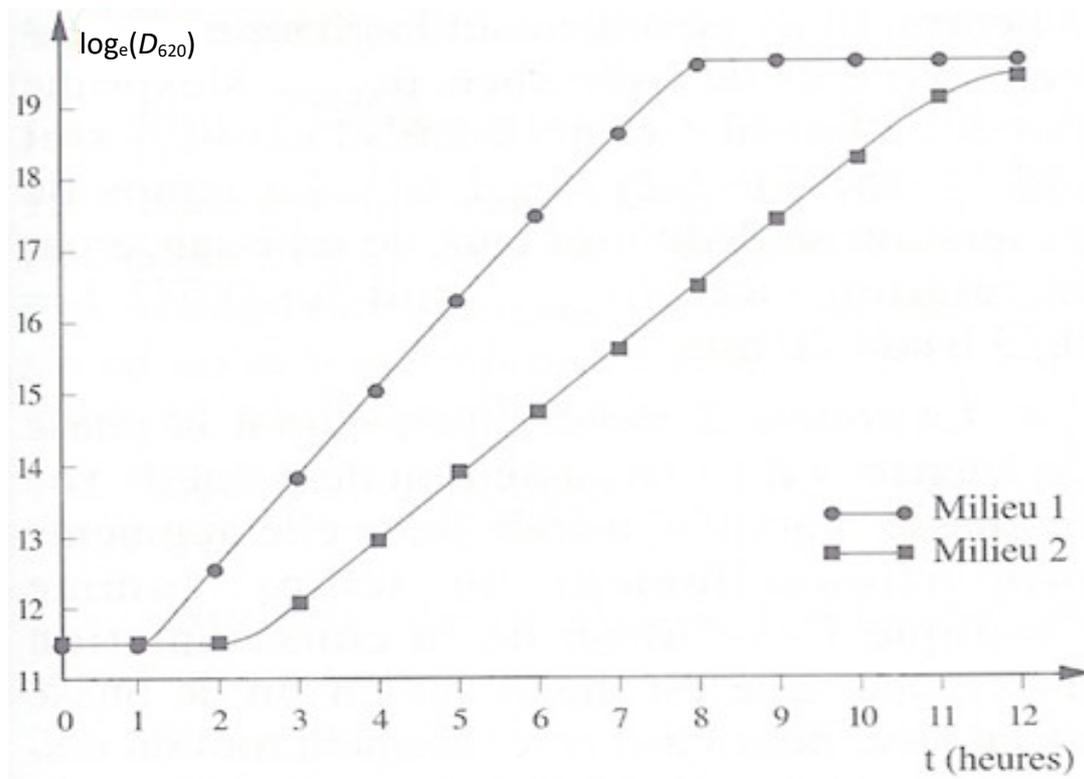
**Q2.** Calculer le taux de croissance  $\mu_{\text{expo}}$  et le temps de génération  $G$  de la souche.

### **Exercice n°3 :**

Une souche de *Staphylococcus aureus* est ensemencée sur deux milieux :

- **Milieu 1** : milieu complexe contenant de l'eau, sels minéraux, extraits de viande.
- **Milieu 2** : milieu synthétique contenant eau, sels minéraux, glucose, thiamine.

L'évolution de la population bactérienne en fonction du temps dans les milieux 1 et 2 est suivie en mesurant l'atténuation  $D$  des cultures à  $\lambda = 620 \text{ nm}$ . Les résultats sont les suivants :



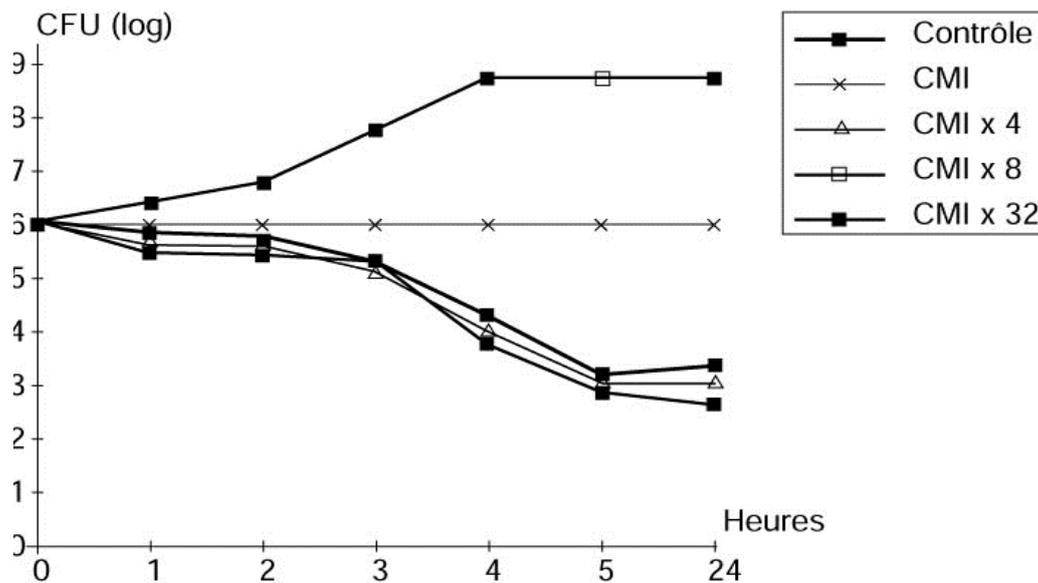
**Q1.** Déterminer graphiquement pour chaque cas le temps de génération  $G$  (donnée :  $\ln(2) = 0,7$ ).

**Q2.** Que peut-on conclure de la comparaison des deux courbes ?

### **Exercice n°4 :**

Des cultures d'une bactéries sont réalisées avec des concentrations différentes d'un antibiotique pour lequel la souche bactérienne est suivante.

Les résultats obtenus sont les suivants :



CMI correspond à la concentration minimale inhibitrice en antibiotique, c'est-à-dire la concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible d'un organisme après 24 heures d'incubation dans un milieu de croissance spécifique.

**Q1.** Commenter l'allure des différentes courbes.

**Q2.** En dégager les notions de bactériostase et de bactéricidie.

### Exercice n°5 :

Les microcines sont des petits peptides produits par *Escherichia coli* qui ont une activité anti-salmonelle. La microcine E492 est produite dans des conditions optimales par culture de la souche E492 d'*Escherichia coli* en milieu approprié.

Des prélèvements de cette culture sont effectués toutes les heures. Sur chaque prélèvement :

- on mesure l'atténuation à  $\lambda = 600 \text{ nm}$  afin de suivre la croissance.
- on détermine la concentration en microcine produite en mesurant son activité sur une souche de *Salmonella* selon le protocole présenté ci après :

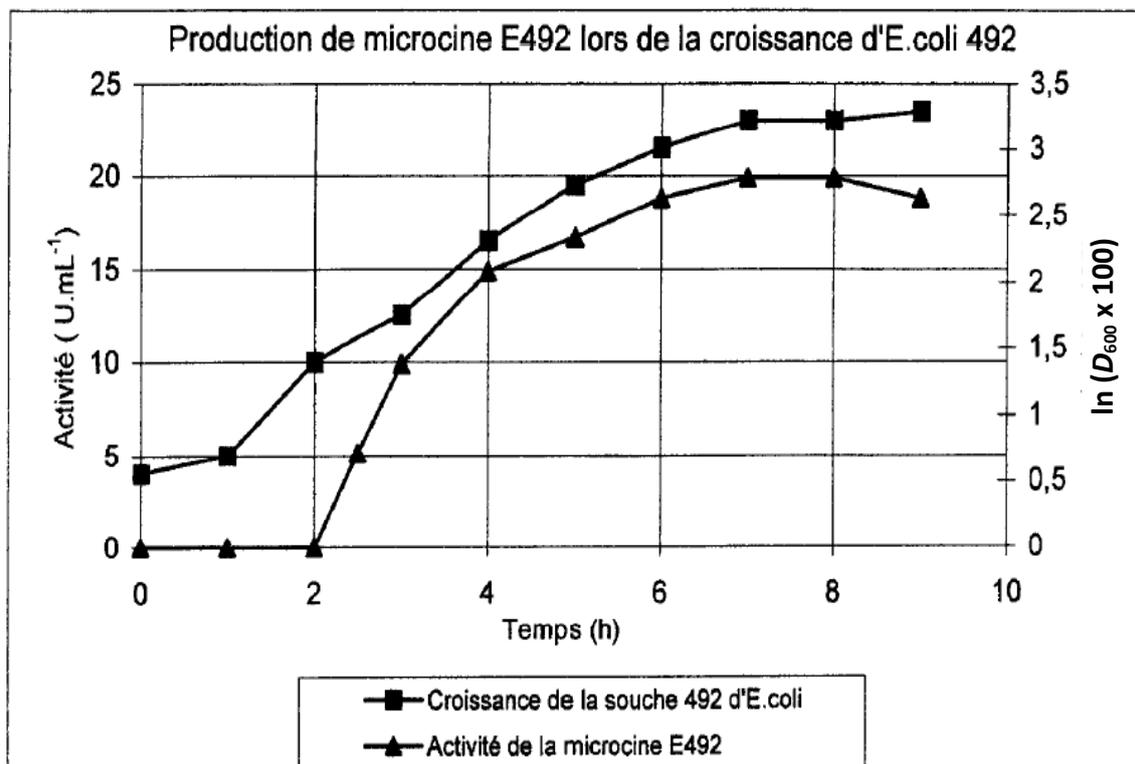
- Préparer 60 mL de gélose M63 contenant la souche *Salmonella* à la concentration de  $2 \cdot 10^5$  bactéries.mL<sup>-1</sup>. Couler cette gélose dans une boîte de 120 mm x 120 mm.
- Creuser des puits à l'aide d'un emporte pièce, prévoir deux puits pour les témoins.
- Déposer dans chaque puits 20  $\mu\text{L}$  de chaque prélèvement.
- Laisser diffuser pendant 15 minutes à la température du laboratoire.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures.
- Mesurer les diamètres d'inhibition de la culture.
- Les résultats sont exprimés en unité d'activité (0,1 mm d'inhibition de la culture correspond à 1 U.mL<sup>-1</sup>).

On dispose d'une suspension de souche de *Salmonella* ayant une  $D_{600} = 0,45$ .

**Q1.** Calculer le volume de suspension bactérienne à incorporer à la gélose pour préparer une boîte.

Donnée : 1 unité de  $D_{600}$  correspond à  $10^9 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

Les résultats obtenus pour le suivi de la production de microcine sont donnés sur le document suivant :



**Q2.** Pendant quelle phase de croissance la microcine est-elle produite ? Justifier.

**Q3.** Déterminer la vitesse spécifique de croissance en phase exponentielle  $\mu_{x \text{ expo}}$  et le temps de génération  $G$  de la souche utilisée. Justifier.