

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

Les microorganismes se divisent selon deux principaux mécanismes : la **scissiparité** et le **bourgeonnement**.

.....

.....

### 1. MÉTHODES D'ÉTUDE DE LA CROISSANCE DES MICROORGANISMES

→ Voir TP

.....

.....

Les principales autres méthodes d'étude de la croissance des microorganismes sont : le **dénombrement en hématimètre**, la **détermination du poids sec**, le **compteur de particules**, l'**ATPmétrie**, l'**impédancemétrie**.

On utilise moins le dénombrement après culture.

### 2. ACCROISSEMENT D'UNE POPULATION DE MICROORGANISMES

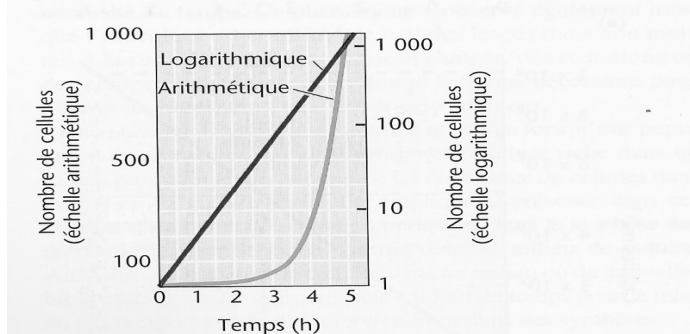
#### 2.1. CROISSANCE EXPONENTIELLE

Soit une étude réalisée à partir d'une cellule unique dont la division requiert 30 minutes :

**Document n°1 : croissance d'une culture de microorganismes**

Temps (h)	Nombre total de cellules	Temps (h)	Nombre total de cellules
0	1	4	256 (2 <sup>8</sup> )
0,5	2	4,5	512 (2 <sup>9</sup> )
1	4	5	1 024 (2 <sup>10</sup> )
1,5	8	5,5	2 048 (2 <sup>11</sup> )
2	16	6	4 096 (2 <sup>12</sup> )
2,5	32	.	.
3	64	.	.
3,5	128	10	1 048 576 (2 <sup>19</sup> )

(a)



**La population augmente de façon exponentielle avec le temps** : l'accroissement du nombre de cellules est faible au départ mais augmente continuellement.

Quand on représente l'évolution de la population en fonction du temps, on obtient graphiquement :

- .....
- .....

**Les populations de microorganismes ne se développent pas en permanence selon un mode exponentiel.**

Exemple : Calculer la masse théorique d'une population bactérienne dont la croissance en phase exponentielle dure 48 heures à partir d'une seule cellule dont le temps de génération est de 20 minutes, sachant que la cellule de départ a une masse égale à 10<sup>-15</sup> kg.

Donnée : masse de la Terre = 6,0·10<sup>24</sup> kg.

## 2.2. PARAMÈTRES D'ÉTAT DE LA CROISSANCE

### 2.2.1. VITESSE DE CROISSANCE $r_x$

La **vitesse de croissance**  $r_x$  à l'instant  $t$  est :

$r_x$  s'exprime en .....

.....

.....

### 2.2.2. VITESSE SPÉCIFIQUE DE CROISSANCE $\mu_x$ ou $Q_x$

La vitesse spécifique de croissance  $\mu_x$  à l'instant  $t$  est la vitesse de croissance rapportée à l'unité de biomasse :

$\mu_x$  s'exprime en .....

.....

.....

.....

.....

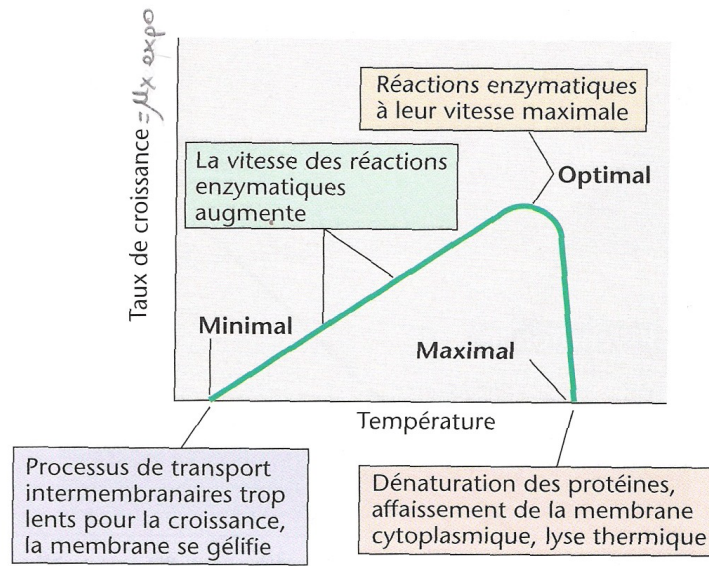
## 2.3. INFLUENCE DES CONDITIONS DE MILIEU ET D'ENVIRONNEMENT : LES VARIABLES D'ACTION

.....

.....

### 2.3.1. TEMPÉRATURE

Document n°2 : influence de la température sur la croissance



Sur la courbe courbe  $\mu_{x \text{ expo}} = f(\text{température})$  :

.....

.....

.....

.....

.....

On peut ainsi classer les microorganismes en fonction de leur température optimale de croissance :

Document n°3 : détermination de la température optimale de croissance pour différents microorganismes

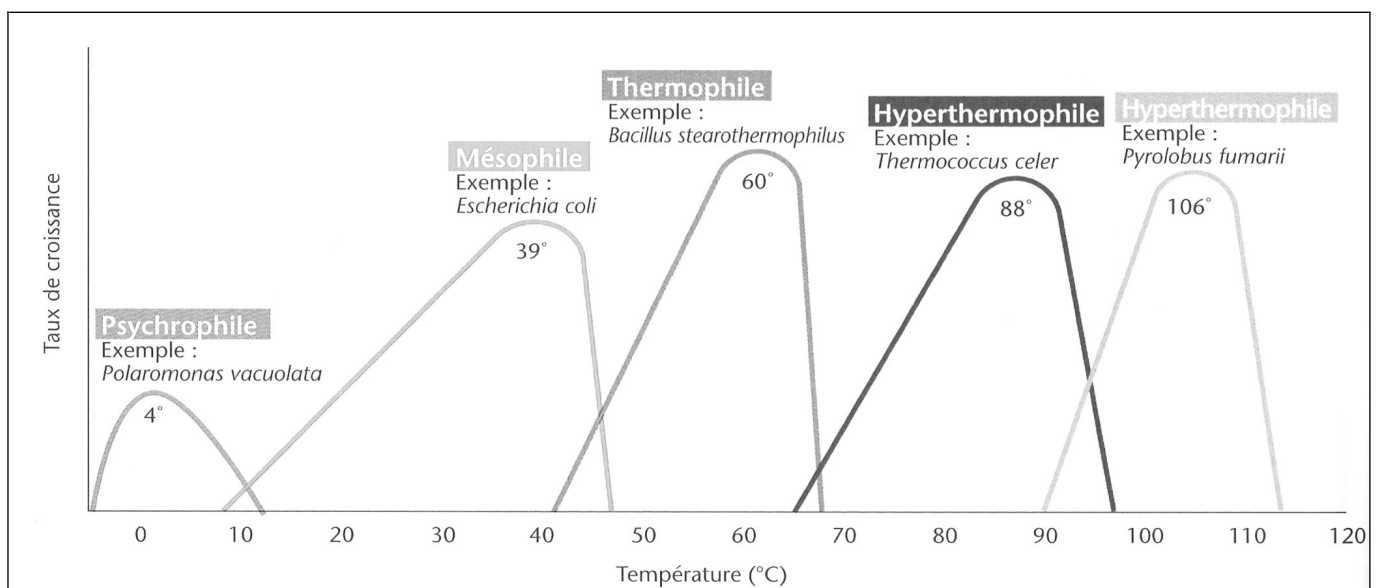


Tableau récapitulatif :

### 2.3.2. pH

Comme pour la température, on distingue :

- .....
- .....
- .....

Le *pH* intervient sur :

- .....
- .....

On peut ainsi **classer les microorganismes** en fonction de leur ***pH* optimal de croissance** :

- .....
- .....
- .....

### 2.3.3. PRESSION OSMOTIQUE – ACTIVITY OF WATER $A_w$

La disponibilité en eau est un facteur influençant fortement la croissance : elle dépend de la présence d'eau mais aussi de la concentrations en solutés (qui « retiennent » les molécules d'eau et les rendent donc moins disponibles pour les microorganismes).

Elle peut être évaluée par le paramètre activité de l'eau notée  $A_w$ .

$A_w$  est compris **entre 0 et 1**, 1 correspondant à l'eau pure soit la disponibilité en eau la meilleure.

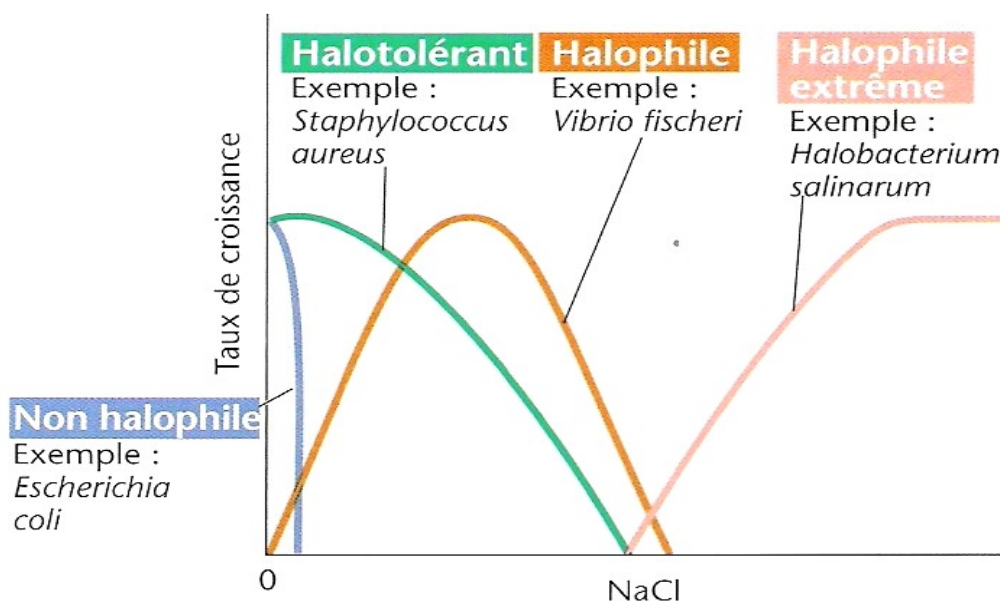
Document n°4 : Influence de la disponibilité en eau sur la croissance

Valeurs d'Aw pour quelques solutions de NaCl et de saccharose

Aw à 25 °C	NaCl en g/100g d'eau	Saccharose en g/100g d'eau
0,99	1,75	11
0,96	7,01	25
0,94	10,34	93
0,92	13,50	120
0,90	16,50	144
0,85	23,60	208

Aw de quelques micro-organismes et aliments

Micro-organismes	Aliments
<i>Acinetobacter</i> (0,99)	Viandes (0,99)
<i>Cl. botulinum</i> (0,97)	Raisin (0,986)
<i>Ps. fluorescens</i> (0,957)	Pommes (0,98)
<i>E. coli</i> (0,95)	Cerises (0,977)
<i>Salmonella spp</i> (0,95)	Confiture (0,75-0,80)
<i>St. aureus</i> (0,86)	Céréales (< 0,70)
Bactéries halophiles (0,75)	Chocolat (< 0,60)
<i>Sc. cerevisiae</i> (0,90-0,94)	
Levures halophiles (0,62)	
<i>Fusarium</i> (0,90)	
<i>Mucor</i> (0,80-0,90)	
<i>Aspergillus flavus</i> (0,78)	



On appelle :

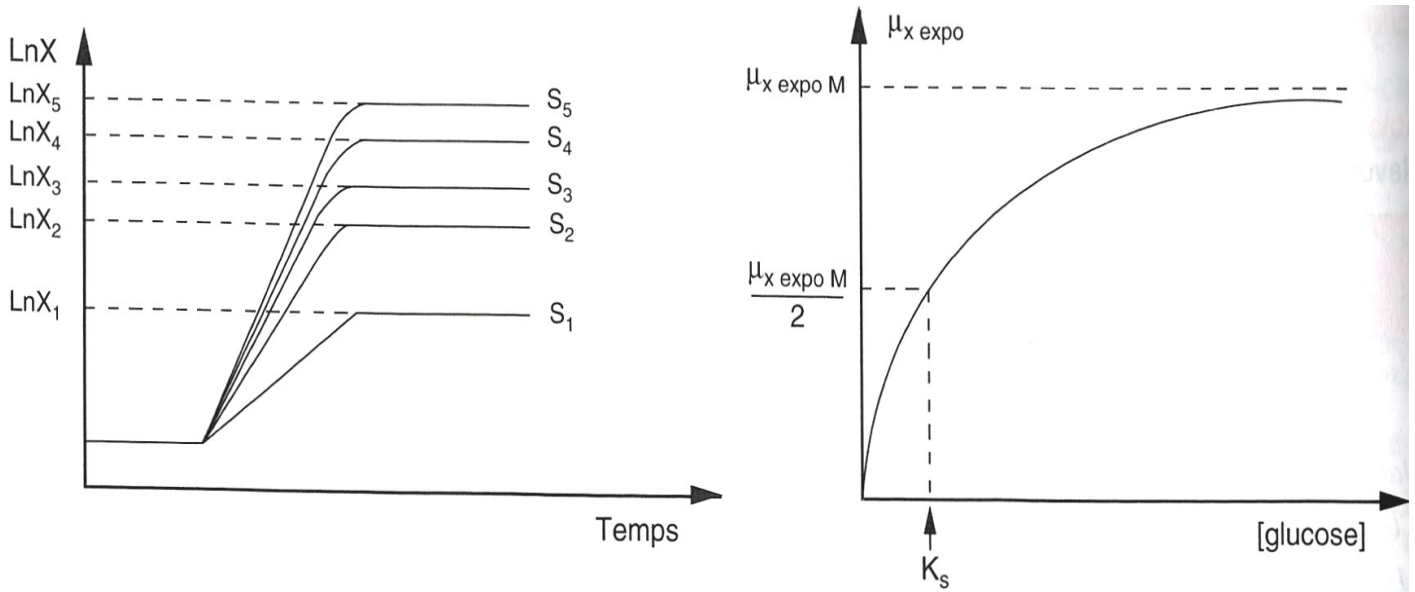
- .....
- .....

**2.3.4. NATURE ET CONCENTRATION DU SUBSTRAT**

- Exemple :
- Pour *Bacillus subtilis* :  $\mu_{x_{expo}}$  =
  - Pour *Bacillus subtilis* :  $\mu_{x_{expo}}$  =

Dans un milieu synthétique avec une seule source de carbone, en phase exponentielle de croissance on obtient:

Document n°5 : Influence de la concentration en substrat sur la croissance



On peut alors établir l'équation de MONOD :

- Exemples :  $K_s$  vis-à-vis du glucose : - *Escherichia coli* :  $K_s = 4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .  
 - *Saccharomyces cerevisiae* :  $K_s = 25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

.....

.....

.....

.....

.....

Remarque : À forte concentration, un substrat peut devenir inhibiteur.

### 2.3.5. AÉRATION

#### 2.3.5.1. DISPONIBILITÉ EN O<sub>2</sub>

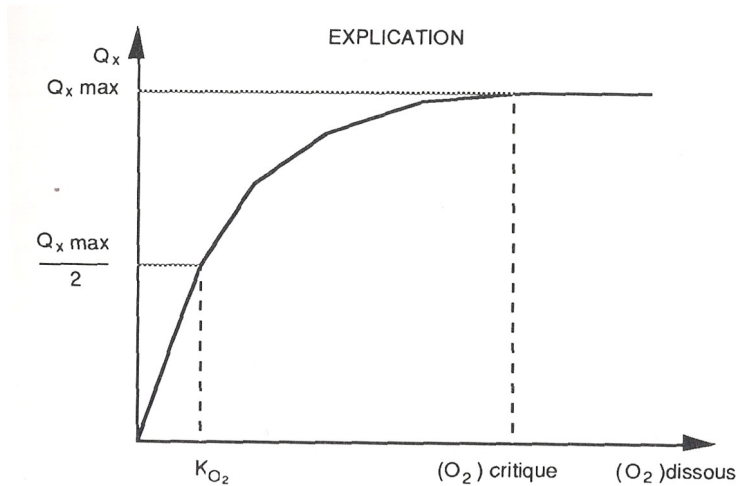
La plupart des niches environnementales sont exposées au O<sub>2</sub>.

On distingue différents type respiratoire vis-à-vis du O<sub>2</sub> chez les microorganismes :

- .....
- .....
- .....
- .....

Pour les microorganismes aérobies strictes, le taux de croissance  $\mu_{X\text{ expo}}$  ou  $Q_{X\text{ expo}}$  est fonction des conditions d'aération :

Document n°6 : Influence de la présence de O<sub>2</sub> sur la croissance de bactéries aérobies strictes



Remarque : Au-delà d'une certaine concentration, l'O<sub>2</sub> est toxique pour de nombreux microorganismes aérobie strictes.

#### 2.3.5.2. DISPONIBILITÉ EN CO<sub>2</sub>

.....

Cependant, la quantité nécessaire pour une croissance optimale est variable. La teneur atmosphérique en CO<sub>2</sub> (0,03%) satisfait la plupart des autotrophes et hétérotrophes, mais pour une croissance optimale des autotrophes il est nécessaire d'enrichir en CO<sub>2</sub>.



**3. CULTURE EN MILIEU NON RENOUVELÉ = CULTURE EN BATCH = CULTURE DISCONTINU**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

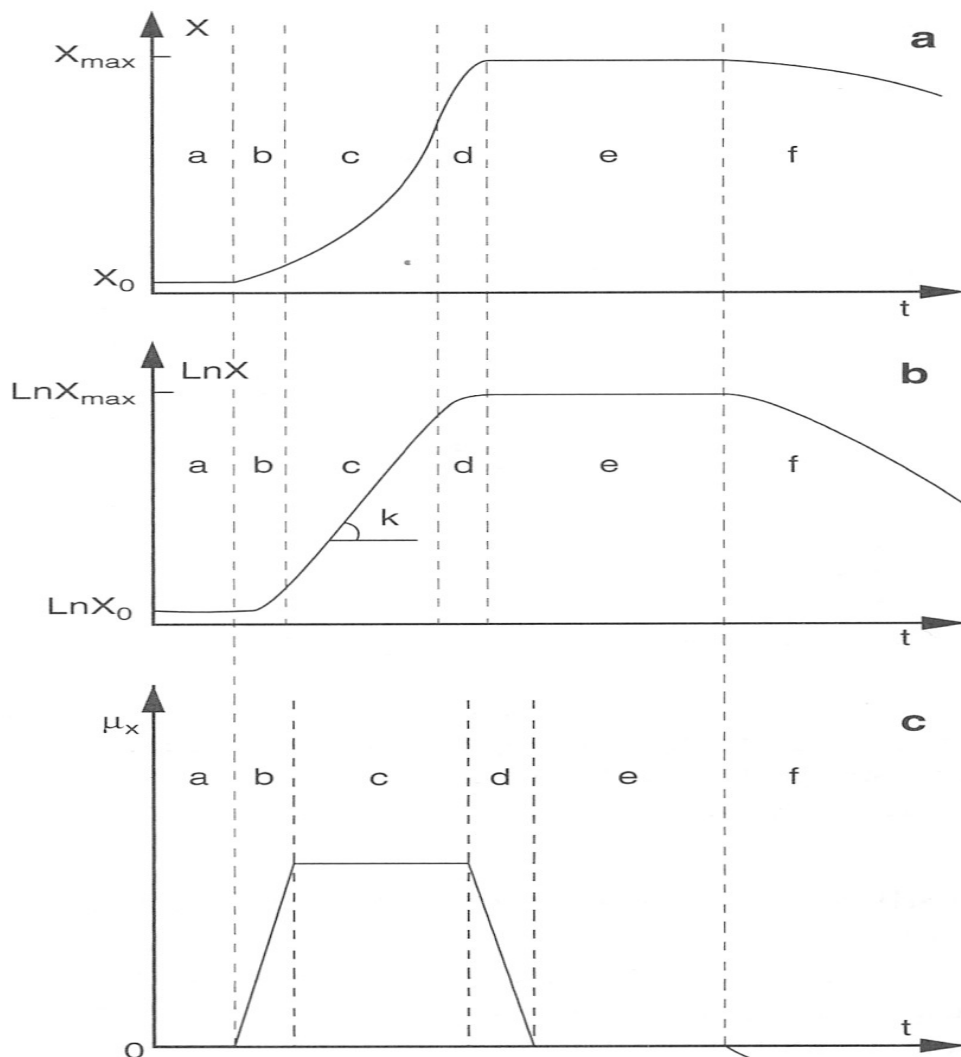
→ Voir TP

Il existe également la culture en milieux renouvelés : fed-batch, turbidostat, chemostat.

→ Voir cours de MGM en TB2

**3.1. ÉTUDE D'UNE CINÉTIQUE DE CROISSANCE EN MILIEU NON RENOUVELÉ**

Document n°7 : Représentations graphiques d'une cinétique de croissance en milieu non renouvelé



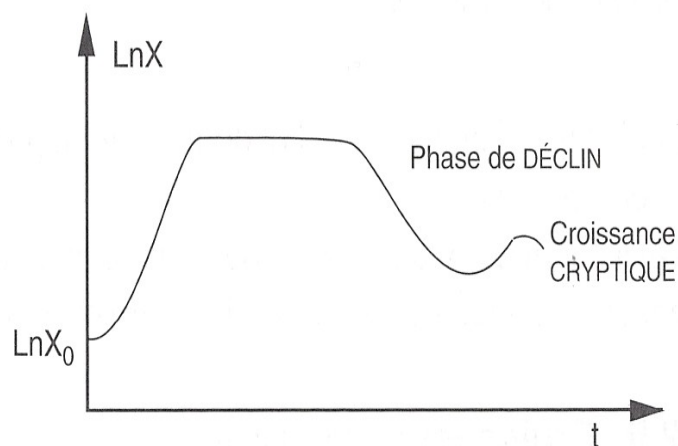


**f) Phase de déclin :**

Le taux de cellules lysées devient supérieur au taux de croissance.

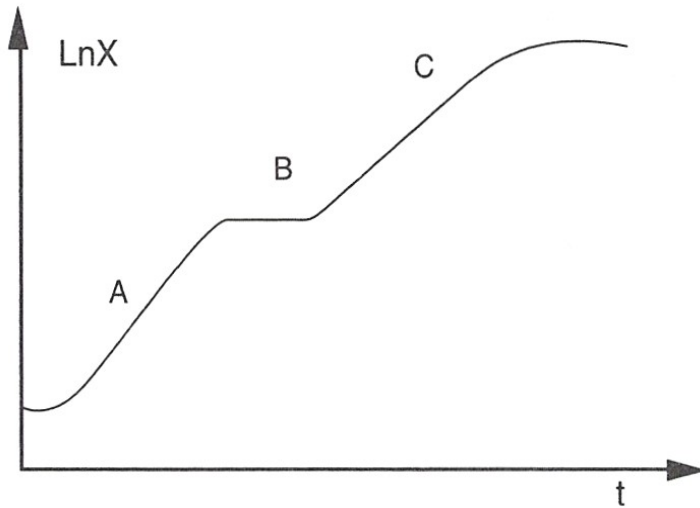
Dans certains cas, certaines cellules peuvent amorcer une nouvelle phase de multiplication aux dépens de substances libérées par la lyse : on parle alors de **croissance cryptique**.

Document n°8 : phénomène de croissance cryptique



### 3.2. PHÉNOMÈNE DE DIAUXIE

Document n°9 : Phénomène de diauxie chez *Escherichia coli* cultivée en présence de fructose et d'arabinose comme sources de carbone



- A : Utilisation du fructose seul
- B : Phase d'adaptation à l'arabinose
- C : Utilisation de l'arabinose

### 3.3. BACTÉRIOSTASE ET BACTÉRICIDIE

Remarque :

Il existe de telles substances spécifiques des mycètes (fongicides, fongistatiques).  
 Pour de ces substances, on définit :

- \_\_\_\_\_ :
- .....
- .....
- .....
- .....
- .....
- \_\_\_\_\_ :
- .....
- .....
- .....
- .....
- .....

En suivi de croissance en milieu non renouvelé on obtient les résultats suivants :

Document n°10 : évolution de la croissance bactérienne pour différentes concentrations en antibiotique

