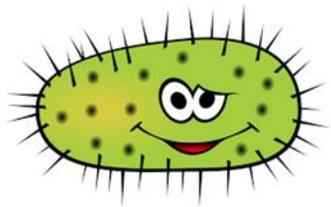


Des mathématiques pour comprendre l'infiniment petit

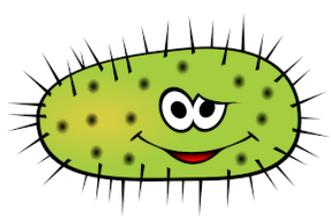
La croissance bactérienne

Delphine Ropers



Inria

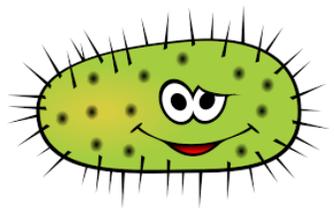




Plan

- Les bactéries et leur croissance
- Le modèle exponentiel de croissance
- Les modèles secondaires
- Les modèles moléculaires

... avec quelques exemples d'utilisation

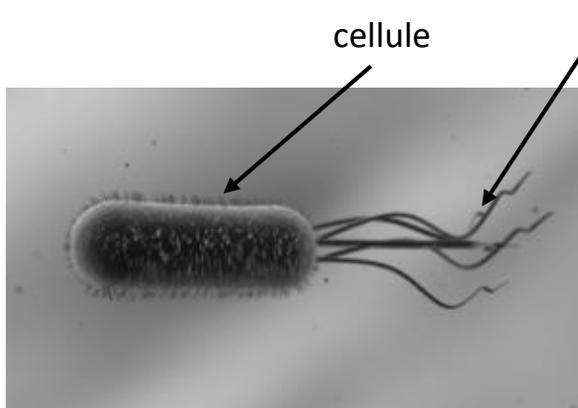


Les bactéries et leur croissance

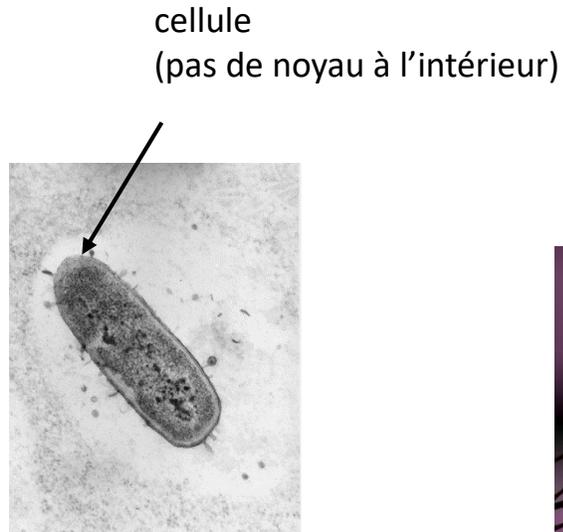
- Les **bactéries** sont des **micro-organismes** (êtres vivants de petite taille), formés d'une seule cellule qui ne contient pas de noyau
 - Elles font environ 1 μm de large
 - On les observe au microscope
 - Elles ont des formes très variées



Microscope



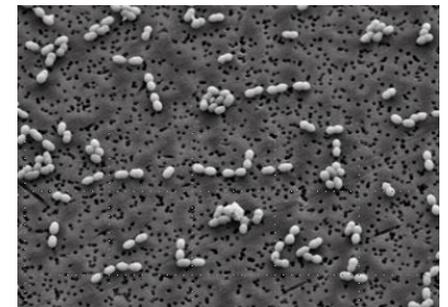
Escherichia coli O157:H7



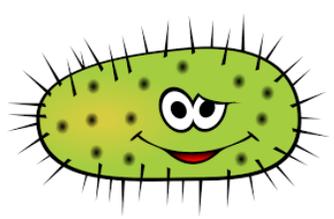
Pseudomonas aeruginosa



Leptospira interrogans

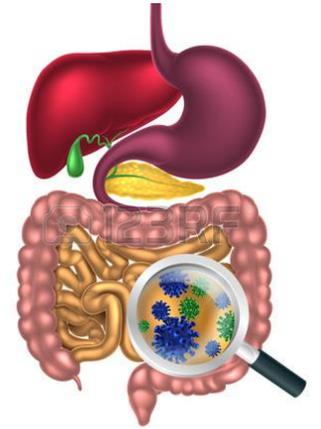


Streptococcus thermophilus



Les bactéries et leur croissance

- Les bactéries sont **partout** !
 - Sur nous et dans notre organisme

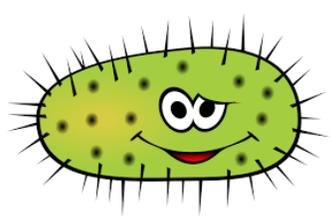


- Dans les aliments



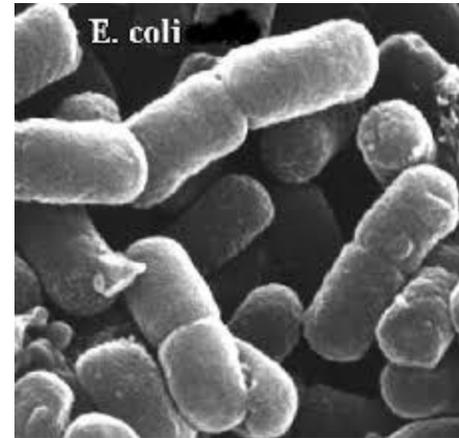
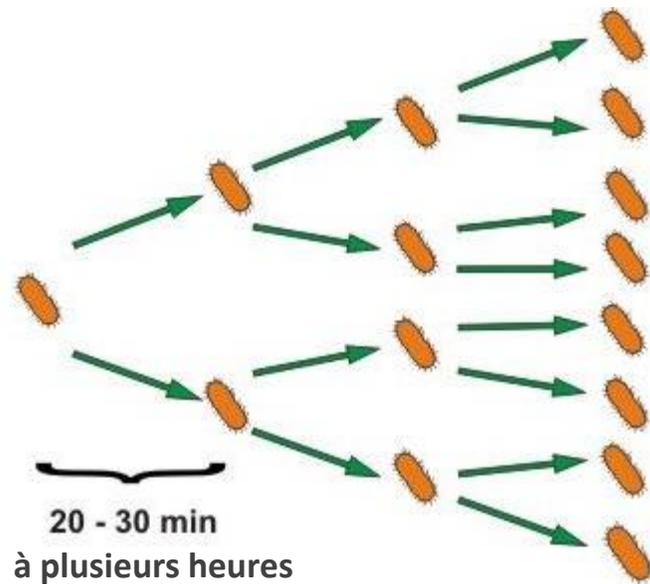
- Dans notre environnement (terre, eau, air, plantes, sol, claviers,...)



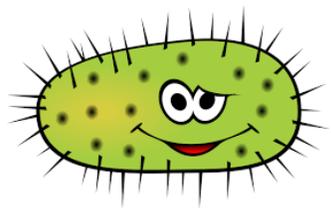


Les bactéries et leur croissance

- Les bactéries se reproduisent par simple division cellulaire
- Chaque bactérie « mère » donne naissance à deux bactéries « filles » identiques

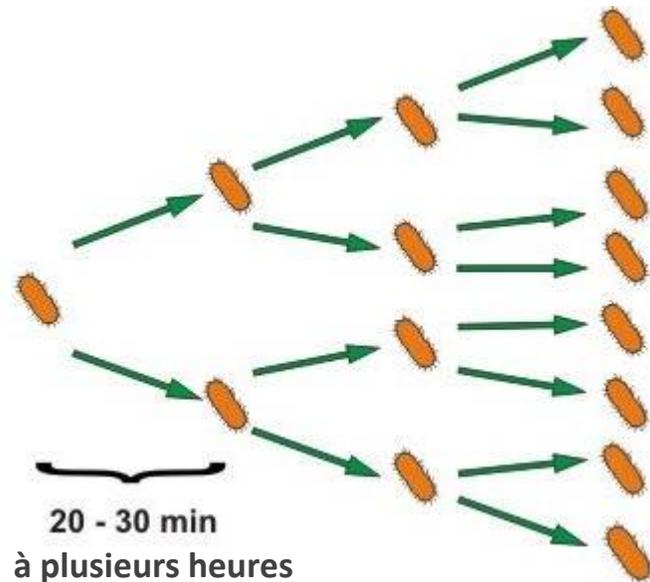


Bactéries *Escherichia coli*
en train de se diviser
vues au microscope



Les bactéries et leur croissance

- Exemple de croissance sur un milieu solide (boîte de Petri) : les bactéries nées de la même bactérie mère forment un amas appelé **colonie de bactéries**

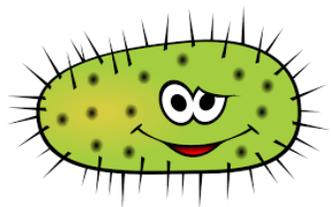


Croissance d'une colonie de bactéries
Escherichia coli vues au microscope

<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030045.sv001>

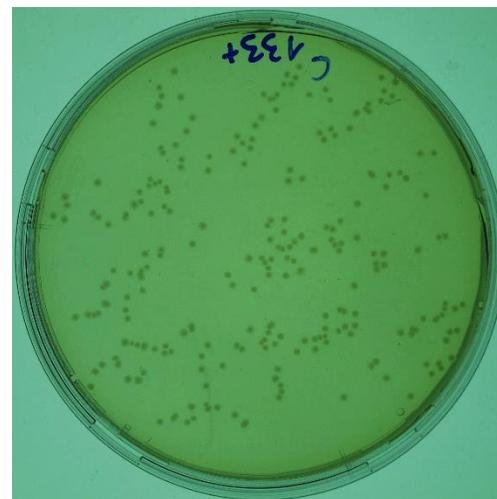
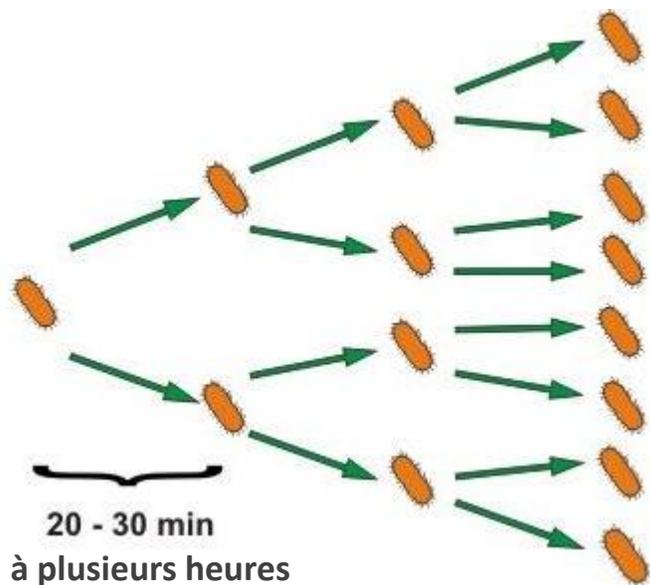
Stewart *et al.* (2005)

- Les bactéries ne sont pas visibles à l'œil nu, mais les colonies de bactéries le sont lorsqu'on les observe après un temps suffisamment long



Les bactéries et leur croissance

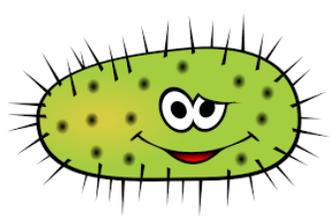
- Exemple de croissance sur un milieu solide (boîte de Petri) : les bactéries nées de la même bactérie mère forment un amas appelé **colonie de bactéries**



© T. Clavier, LIPhy

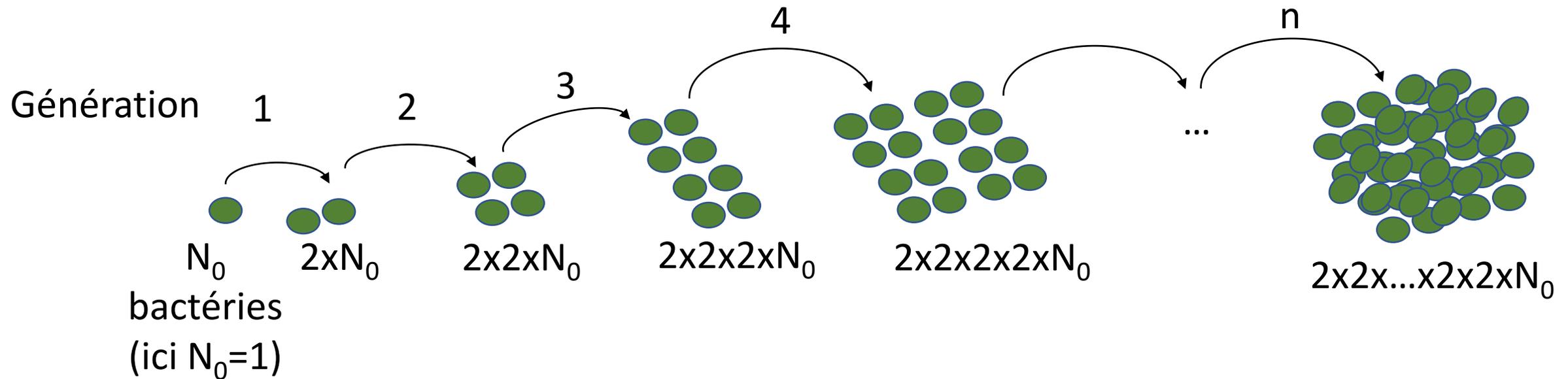
Colonies de bactéries *Escherichia coli* après une nuit sur boîte de Petri

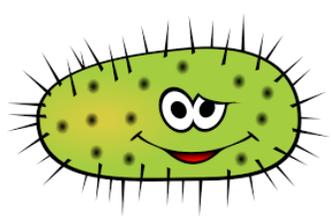
- Les bactéries ne sont pas visibles à l'œil nu, mais les colonies de bactéries le sont lorsqu'on les observe après un temps suffisamment long



Croissance exponentielle des bactéries

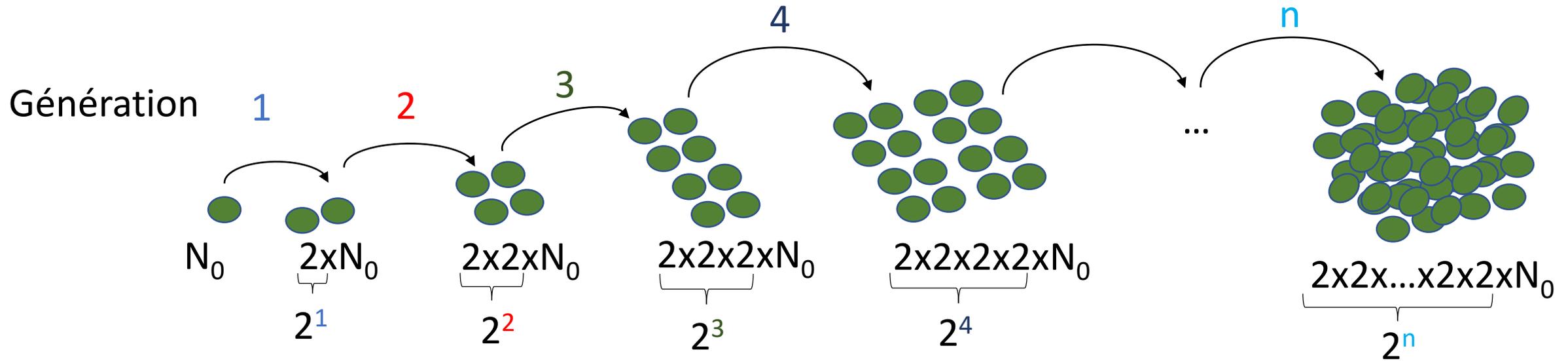
- Les conditions de l'environnement affectent la vitesse à laquelle les bactéries se multiplient
- Par exemple, les bactéries se multiplient de façon exponentielle tant qu'il y a à manger

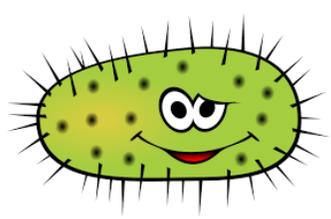




Croissance exponentielle des bactéries

- Les conditions de l'environnement affectent la vitesse à laquelle les bactéries se multiplient
- Par exemple, les bactéries se multiplient de façon exponentielle tant qu'il y a à manger



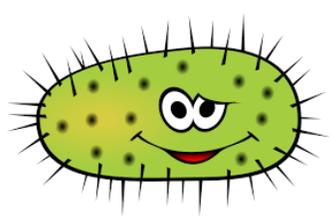


Croissance exponentielle des bactéries

- On obtient donc un **modèle mathématique** qui nous permet de **prédire** combien il y aura de bactéries N après un certain nombre de générations n :

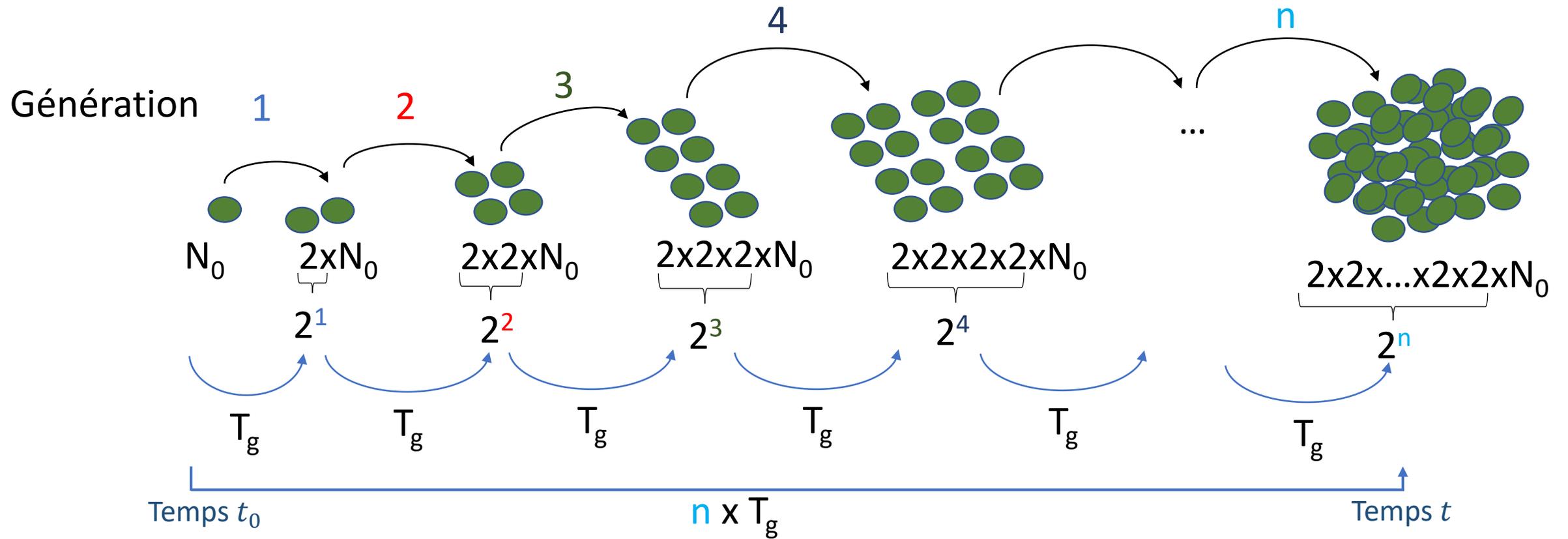
$$N = N_0 \times 2^n$$

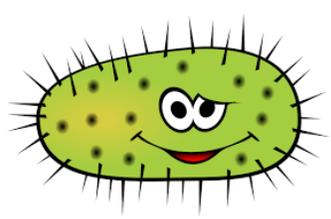
- Exemple : en partant d'une bactérie ($N_0=1$), il y a :
 - $2^{10} = 1024$ bactéries après 10 générations
 - $2^{20} = 1048576$ bactéries après 20 générations



Croissance exponentielle des bactéries

- Prenons en compte à présent le temps pour calculer le taux de croissance :





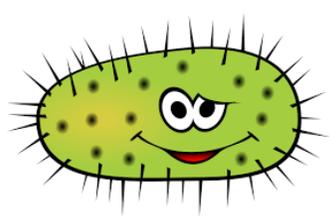
Croissance exponentielle des bactéries

- Pendant le temps $(t - t_0)$, les cellules se sont divisées n fois:

$$N(t) = N_0 \times 2^n = N_0 \times 2^{\left(\frac{t-t_0}{T_g}\right)}$$

- Le taux de croissance maximal μ_{max} s'obtient en utilisant un autre type de puissance, l'exponentielle :

$$N(t) = N_0 \times \exp\left(\ln(2) \times \frac{t - t_0}{T_g}\right) = N_0 \times \exp(\mu_{max} \times (t - t_0))$$



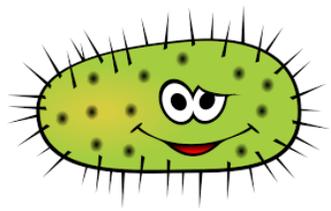
Croissance exponentielle des bactéries

- Si $t_0 = 0$, on obtient le **modèle exponentiel** de croissance bactérienne, appelé également **modèle primaire** :

$$N(t) = N_0 \times \exp(\mu_{max} \times t)$$

- Formulation différentielle :

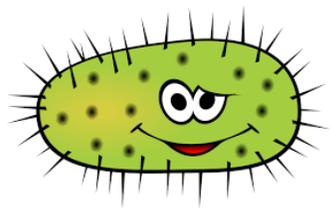
$$\frac{dN(t)}{N(t) dt} = \mu_{max}, \quad N_0 = N(0)$$



Croissance exponentielle des bactéries

- L'utilisation du modèle de croissance va nous permettre de déterminer le taux de croissance des bactéries à partir de données d'expériences
- On fait pousser les bactéries dans un milieu liquide
 - L'accroissement du nombre de bactéries rend le milieu trouble
 - La mesure du trouble par spectrophotométrie (densité optique ou atténuation) est proportionnelle au nombre de bactéries

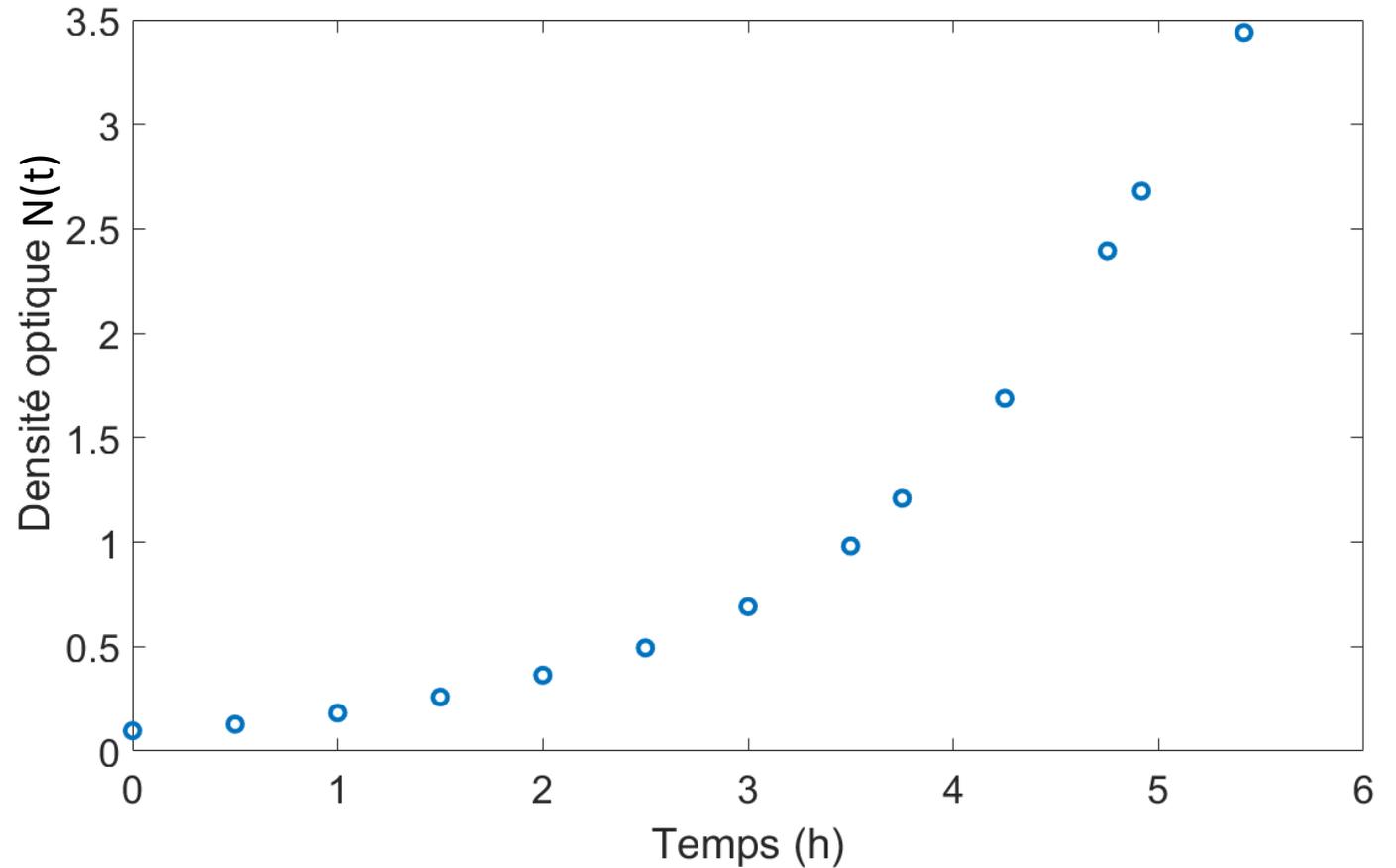


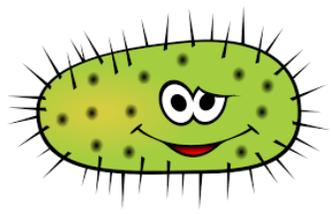


Mesurer la croissance bactérienne

- Mesure de la densité optique de bactéries *Escherichia coli* poussant dans un milieu minimal avec du glucose (sucre) :

| Time (h) | Densité optique |
|----------|-----------------|
| 0,00 | 0,065 |
| 0,83 | 0,124 |
| 1,25 | 0,142 |
| 1,75 | 0,152 |
| 2,25 | 0,165 |
| 2,75 | 0,200 |
| 3,25 | 0,217 |
| 3,75 | 0,225 |
| 4,25 | 0,251 |
| 4,75 | 0,282 |
| 5,25 | 0,299 |
| 5,75 | 0,331 |
| 6,25 | 0,375 |
| 6,75 | 0,404 |
| 6,75 | 0,411 |
| 7,25 | 0,535 |
| 7,50 | 0,556 |
| 7,75 | 0,585 |
| 8,25 | 0,565 |
| 8,75 | 0,714 |
| 9,25 | 0,783 |
| 9,25 | 0,917 |
| 9,75 | 0,960 |

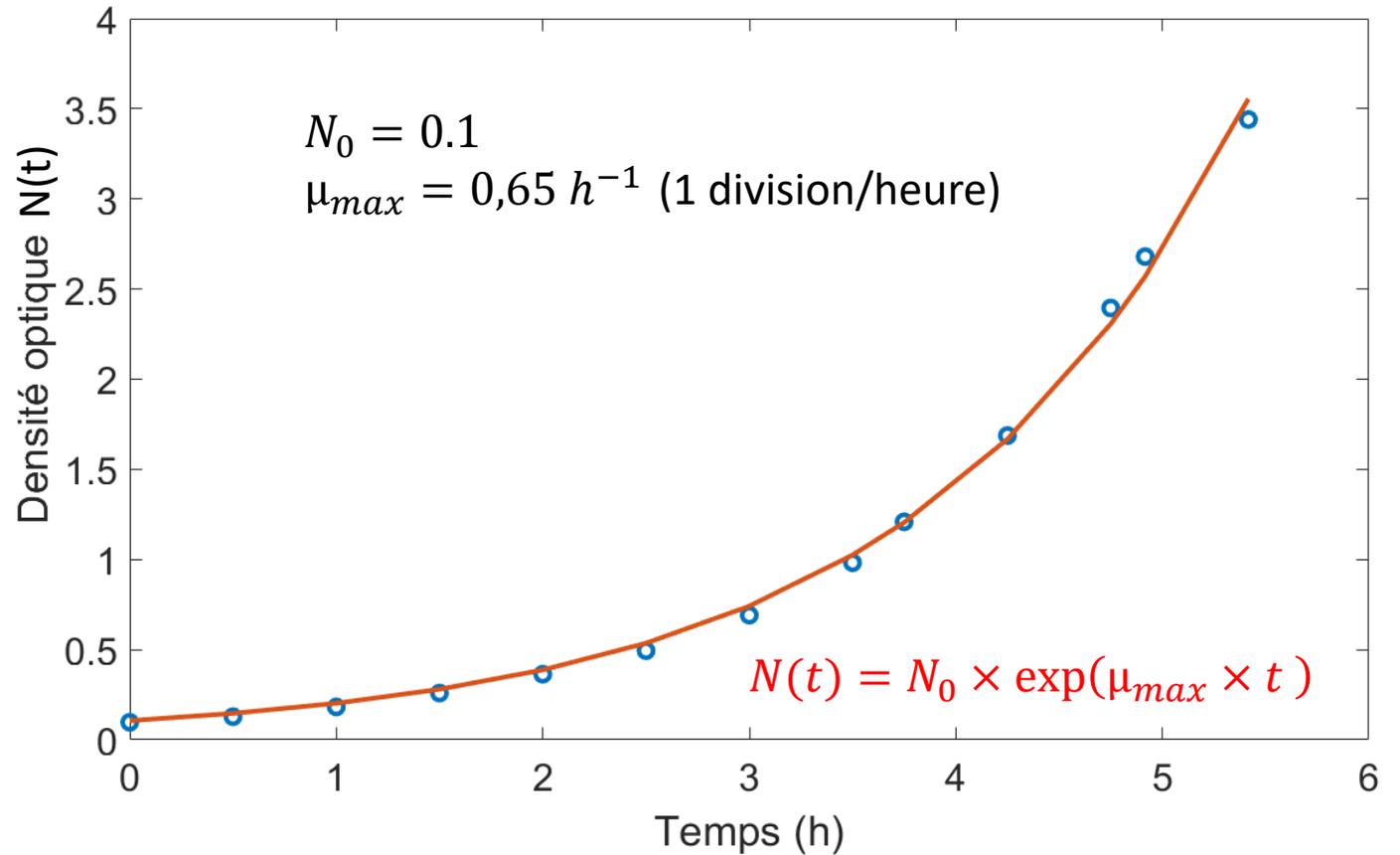


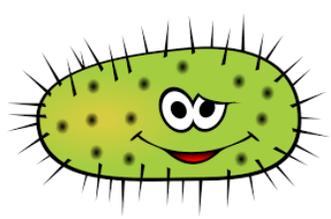


Mesurer la croissance bactérienne

- On “ajuste” les paramètres du modèle exponentiel avec un programme informatique :

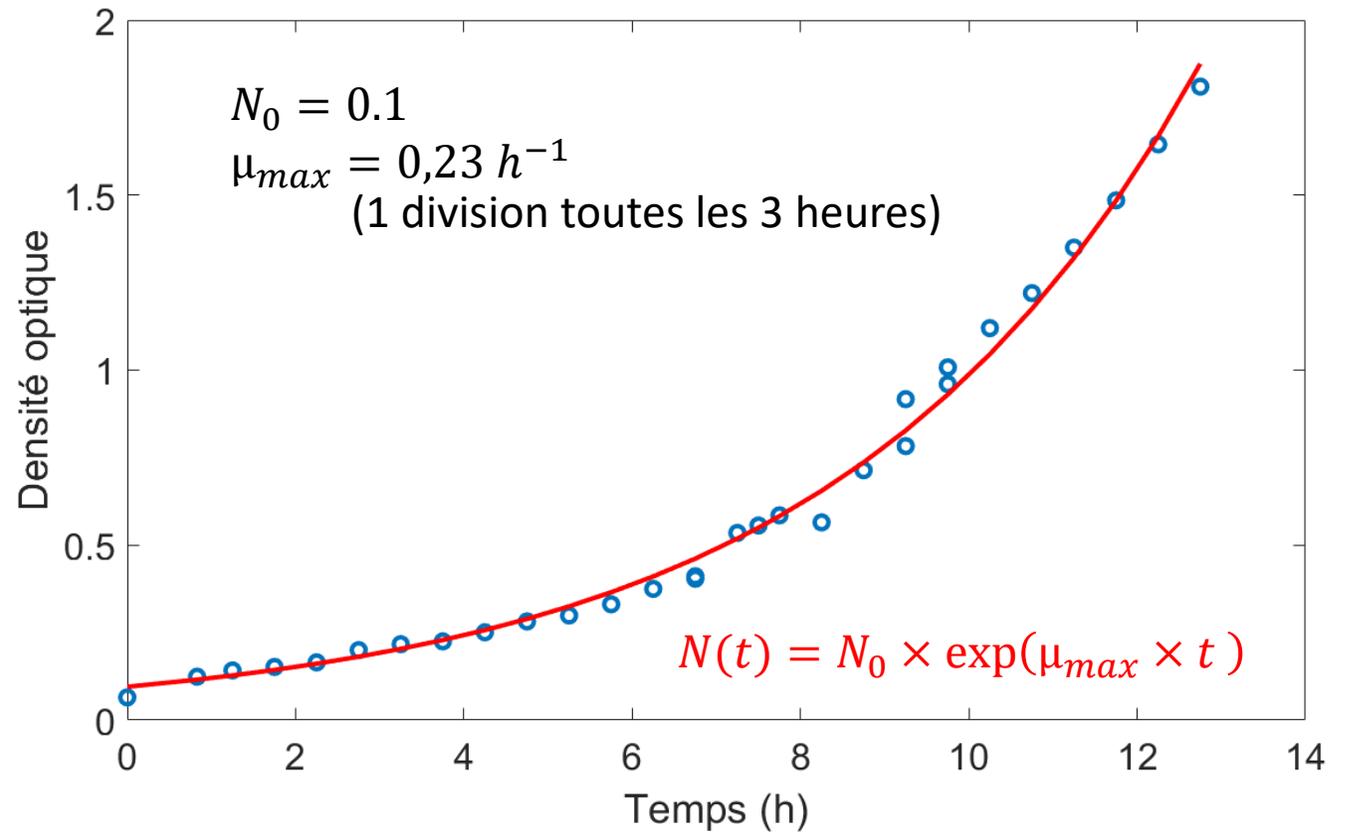
| Time (h) | Densité optique |
|----------|-----------------|
| 0,00 | 0,065 |
| 0,83 | 0,124 |
| 1,25 | 0,142 |
| 1,75 | 0,152 |
| 2,25 | 0,165 |
| 2,75 | 0,200 |
| 3,25 | 0,217 |
| 3,75 | 0,225 |
| 4,25 | 0,251 |
| 4,75 | 0,282 |
| 5,25 | 0,299 |
| 5,75 | 0,331 |
| 6,25 | 0,375 |
| 6,75 | 0,404 |
| 6,75 | 0,411 |
| 7,25 | 0,535 |
| 7,50 | 0,556 |
| 7,75 | 0,585 |
| 8,25 | 0,565 |
| 8,75 | 0,714 |
| 9,25 | 0,783 |
| 9,25 | 0,917 |
| 9,75 | 0,960 |

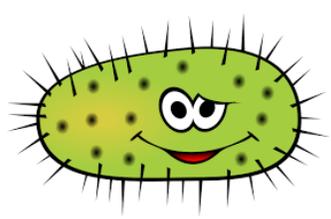




Mesurer la croissance bactérienne

- Le taux de croissance dépend de la source de nourriture
- Mesure de la densité optique de bactéries *Escherichia coli* poussant dans un milieu minimal de culture avec de l'acetate :

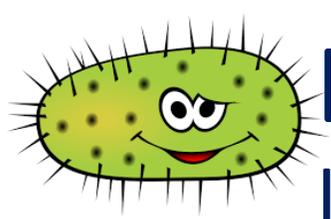




Croissance exponentielle des bactéries

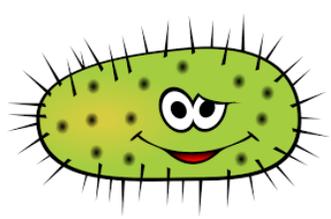
- Le taux de croissance varie selon les espèces bactériennes et la source de nourriture
- Il est optimal en croissance exponentielle, d'où le nom μ_{max}

| Bactérie | Milieu de culture | $\mu_{max}(h^{-1})$ | Temps de generation (min) |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | Milieu minimum + glucose | 0,65 | 60 |
| <i>Escherichia coli</i> | Milieu minimum + acétate | 0,23 | 180 |
| <i>Escherichia coli</i> | Milieu complexe LB | 2,1 | 20 |
| <i>Streptococcus lactis</i> | Lait | 2,3 | 26 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | Lait | 0,63-0,48 | 66-87 |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | Milieu complexe | 0,02 | 1980 |



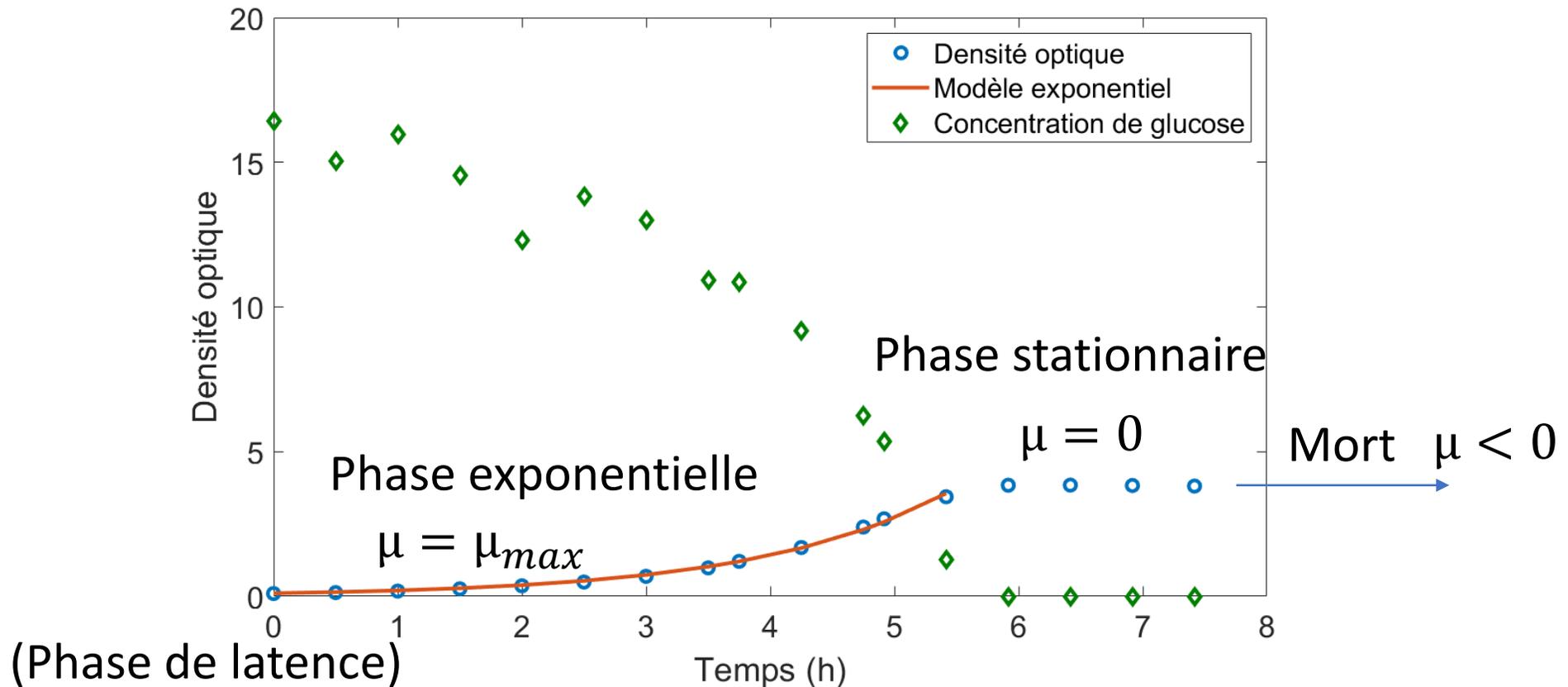
Dépendance de la croissance aux facteurs de l'environnement

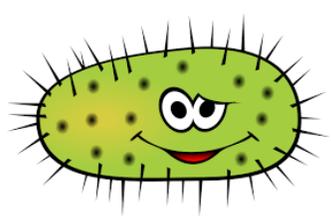
- La croissance des bactéries n'est pas toujours exponentielle
- Elle s'arrête quand les conditions ne sont plus optimales
 - Plus de source de nourriture
 - pH non optimal
 - Température non optimale
 - ...
- Le modèle exponentiel n'est donc valide que sur une partie de la croissance bactérienne



Effet de la source de nourriture

- La croissance s'arrête quand la source de nourriture (ici le glucose) est épuisée
- Les bactéries quittent la phase de croissance exponentielle et entrent dans la phase stationnaire





Effet de la source de nourriture

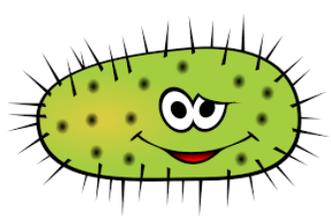
- Le modèle de Jacques Monod décrit la dépendance du taux de croissance à la concentration de source de nourriture :

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K}$$

S : concentration de la source de nourriture
K : constante de demi-vitesse (quand $\mu/\mu_{max} = 0,5$)

Monod (1942)

- La modèle prédit que le taux de croissance est maximal tant qu'il y a assez de nourriture dans le milieu ($S \gg K$)
- C'est un **modèle phénoménologique**



Modèles secondaires

- Différents modèles phénoménologiques ont été développés (ou le sont encore) pour décrire la dépendance du taux de croissance aux effets de l'environnement
- Exemple : **les modèles de type racine carrée**

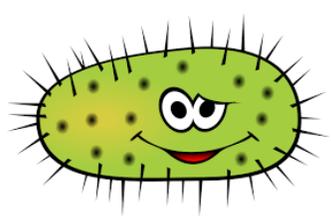
$$\sqrt{\mu} = \sqrt{c}(T - T_{min})$$

c : paramètre constant,

T : température en °C

T_{min} : température minimale de croissance

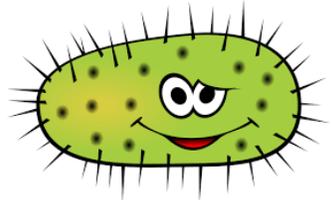
- Les paramètres du modèle sont ajustés à partir de données expérimentales



Modèles secondaires

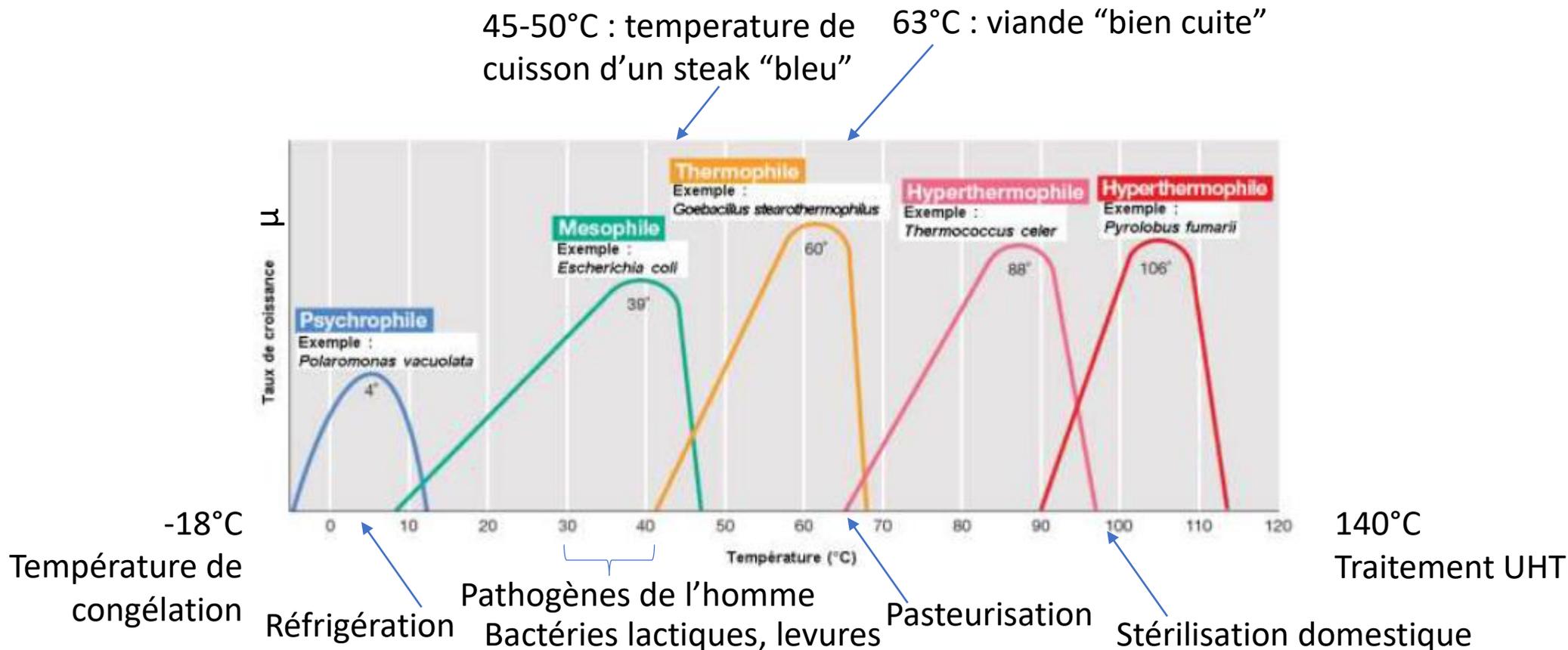
- Les modèles de type racine carrée ont été généralisés pour prendre aussi en compte l'activité de l'eau (a_w) et l'effet du pH (acidité du milieu) :

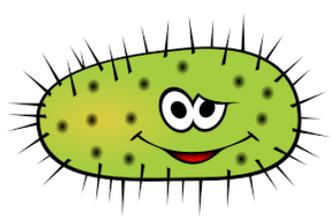
$$\begin{aligned}\sqrt{\mu} &= c(T - T_{\min})(1 - \exp(d(T - T_{\max}))) \\ &\times \sqrt{(a_w - a_{w\min})} \\ &\times \sqrt{(1 - \exp(g(a_w - a_{w\max})))} \\ &\times \sqrt{(1 - 10^{(\text{pH}_{\min} - \text{pH})})} \\ &\times \sqrt{(1 - 10^{(\text{pH} - \text{pH}_{\max})})}\end{aligned}$$



Modèles secondaires

- Ces modèles sont très utilisés dans l'industrie agro-alimentaire pour prédire le développement des micro-organismes, pathogènes ou bénéfiques pour l'homme (on parle de microbiologie prévisionnelle), pour déterminer les dates limites de consommation,...





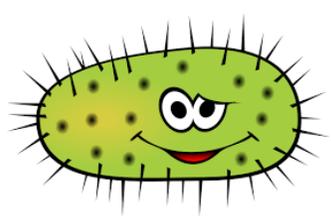
Modèles secondaires

- Le traitement des aliments permettent de limiter la croissance des micro-organismes pathogènes
- Exemple :
 - Acidification
 - Salaison pour a_w

Règlementation européenne (2005) pour limiter la croissance de *Listeria monocytogenes*:

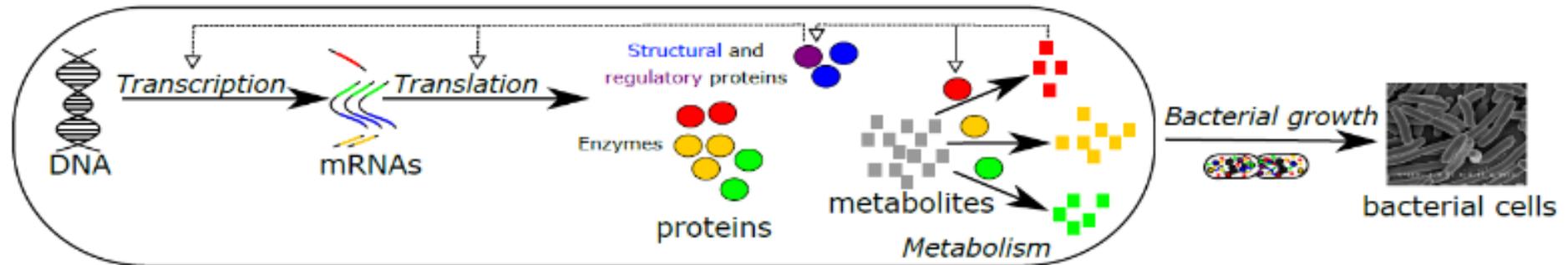
- $a_w \leq 0,92$
- $\text{pH} \leq 4,4$
- $a_w \leq 0,94$ et $\text{pH} \leq 5,0$

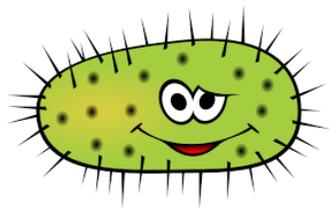
| Micro-organismes | pH min | pH optimum | pH max |
|----------------------------|-----------|------------|----------|
| Bactéries | 4,5 | 6,5 à 7,5 | 9 |
| Bactéries acétiques | 4 | 5,4 à 6,3 | 9,2 |
| <i>Bactéries lactiques</i> | 3,2 | 5,5 à 6,5 | 10,5 |
| <i>Pseudomonas</i> | 5,6 | 6,6 à 7 | 8 |
| <i>Entérobactéries</i> | 5,6 | 6,5 à 7,5 | 9 |
| <i>S. typhi</i> | 4 – 4,5 | 6,5 à 7,2 | 8 – 9,6 |
| <i>E. coli</i> | 4,3 | 6 à 8 | 9 |
| <i>Staphylococcus</i> | 4,2 | 6,8 à 7,5 | 9,3 |
| <i>Clostridium</i> | 4,6 – 5 | | 9 |
| <i>C. botulinum</i> | 4,8 | | 8,2 |
| <i>C. perfringens</i> | 5,5 | 6 à 7,6 | 9,4 – 10 |
| <i>Bacillus</i> | 5 – 6 | 6,8 à 7,5 | 9,4 – 10 |
| Levures | 1,5 – 3,5 | 4 à 6,5 | 8 – 8,5 |
| Moisissures | 1,5 – 3,5 | 4,5 à 6,8 | 8 – 11 |



Les modèles moléculaires

- Les bactéries sont constituées de nombreux composants : protéines, ADN, ARN, métabolites...





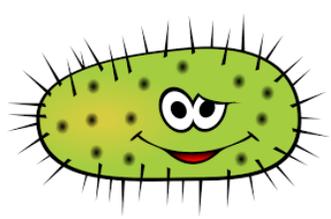
Les modèles moléculaires

- On peut donc voir aussi la croissance des bactéries comme l'augmentation de l'abondance de leurs composants :

Masse de cellules : $M = \text{masse d'ADN} + \text{masse d'ARN} + \text{masse de protéines} + \dots$

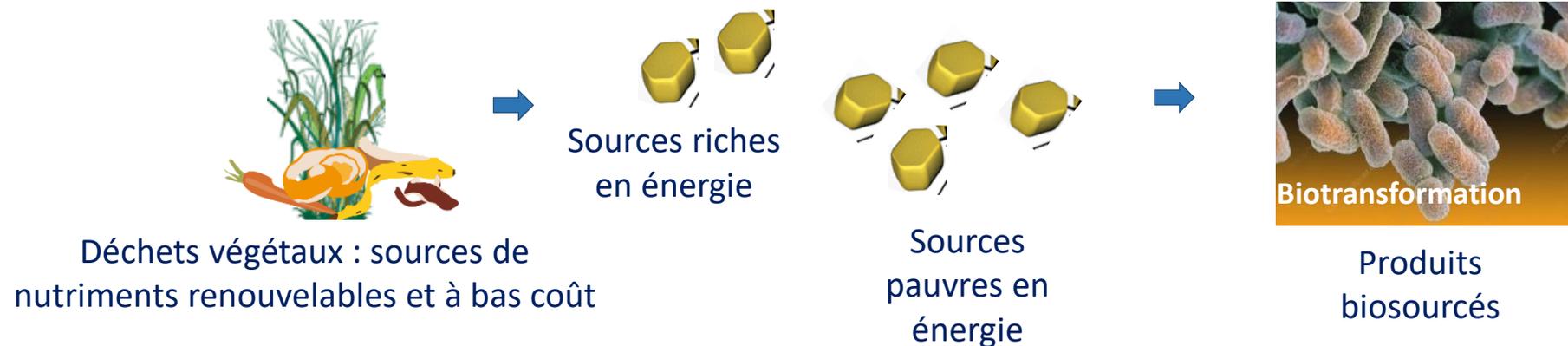
$$\frac{dM}{dt} = f(\text{masse de protéines, ADN, ARN, } \dots), \quad M_0 = M(0)$$

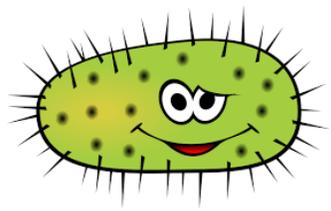
- Ces modèles sont utilisés pour comprendre comment les cellules bactériennes synthétisent leurs composants à partir des sources de nutriments



Les modèles moléculaires

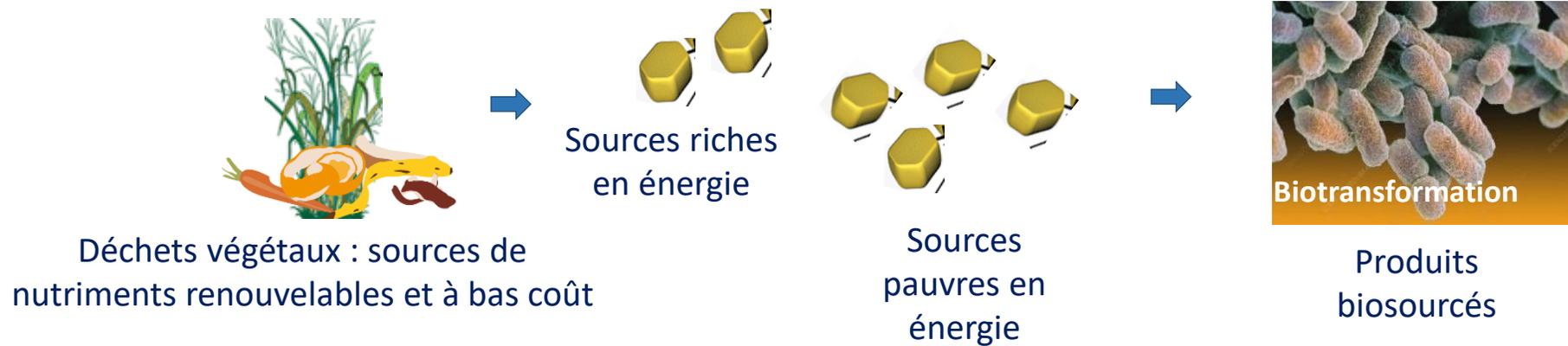
- Cette compréhension nous permet de proposer des stratégies de modification d'espèces bactériennes pour améliorer la production de composés par des micro-organismes
 - Exemple : valorisation de la dégradation de la biomasse végétale en bioéconomie



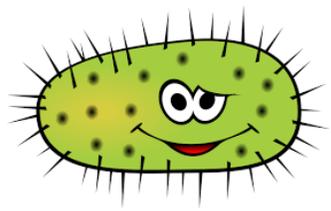


Les modèles moléculaires

- Dans le projet ANR (Agence Nationale de la Recherche) RIB-ECO, nous développons des modèles mathématiques pour prédire comment permettre aux cellules de sauver de l'énergie afin de mieux pousser sur des sources pauvres en énergie

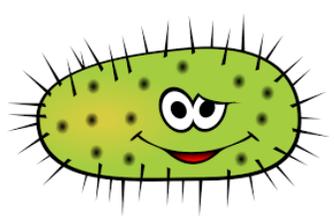


- Nous étudions expérimentalement le comportement de ces souches



Conclusions

- Pour étudier l'infiniment petit (la croissance des bactéries), les maths sont indispensables !
- Nous pouvons :
 - déterminer les vitesses de croissance
 - prédire à quelle vitesse les bactéries se multiplient
- Cela a un intérêt dans notre vie de tous les jours !
- D'autres disciplines sont également utiles en microbiologie :
 - Physique : mesure de l'absorbance des bactéries par spectroscopie, microscopie, ...
 - Informatique : analyse des images de suivi de croissance bactérienne en microscopie, ajustement des paramètres des modèles, ...



Merci pour votre attention !

