

TP 11 Étude de la croissance en milieu non renouvelé

Étude de la croissance lors de l'infection phagique

But du TP

Révision du suivi de croissance en milieu non renouvelé.
Étude de la croissance lors de l'infection phagique.
Dénombrement (évaluation).

1. Préparation des cultures A et B

Culture A: témoin de croissance sans bactériophage

Culture B: croissance en présence de bactériophage

On dispose d'une préculture de la souche en milieu LB et en phase exponentielle de croissance (100mL pour la classe).

Déterminer le volume v de préculture à ajouter à 50mL de milieu stérile de façon à obtenir une absorbance de 0,1 UA +/- 0,01.

Contrôler l'absorbance obtenue.

Au temps $t = 0$, ajouter le volume v , homogénéiser et placer au bain marie agité (agitation douce) à 37°C.

Conserver un aliquot en tube à hémolyse et à +4°C en vue d'un dénombrement.

Au temps $t = 1h$, introduire dans l'erlen B uniquement un volume x de la solution stock de bactériophages obtenue la semaine précédente et congelée à -80°C, de façon à introduire environ 1 phage pour 1 000 bactéries.

2. Suivi de croissance

Suivre la croissance par mesure de l'absorbance toutes les 20 minutes à 600nm, en anticipant les dilutions éventuelles compte tenu de la limite de linéarité du spectrophotomètre (0,6 UA).

Suivre la croissance témoin A jusqu'à la fin de la phase exponentielle.

3. Dénombrement de la culture au temps $t=0$.

Réaliser les dilutions décimales de la culture au temps $t=0$ (croissance stoppée à +4°C) en eau physiologique : dénombrer dans la masse en double essai et par la technique de la double couche en gélose PCA.

Incuber 24h à 37°C.

Compte rendu

1. *Présenter le calcul du volume v de préculture à introduire dans 50mL de milieu stérile.*
2. *Présenter le calcul du volume x de phage à introduire dans l'erlen B.*
3. *Présenter un tableau des résultats des cultures A et B: faire figurer les dilutions réalisées, les absorbances lues et corrigées, le $\ln(A_{\text{corrigée}})$.*
4. *Tracer la courbe de croissance $\ln(A_{\text{corrigée}}) = f(t)$*
5. *Déterminer les différentes phases de la croissance témoin. Calculer la vitesse maximale spécifique de croissance, le temps de génération G , la taux de croissance horaire, le nombre de division par heure.*