HAL
open science

RE-EVALUATION DU MODELE DE CROISSANCE DE MONOD.EFFET DES ANTIBIOTIQUES SUR L'ENERGIE DE MAINTENANCE

J. R. Lobry

To cite this version:

J. R. Lobry. RE-EVALUATION DU MODELE DE CROISSANCE DE MONOD.EFFET DES ANTIBIOTIQUES SUR L'ENERGIE DE MAINTENANCE. Ecologie, Environnement. Université Claude Bernard - Lyon I, 1991. Français. NNT : . tel-00410686

HAL Id: tel-00410686

https://theses.hal.science/tel-00410686

Submitted on 24 Aug 2009

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre 134-91 Année 1991

THESE
---

présentée
devant l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I
pour l'obtention
du DIPLOME DE DOCTORAT

par

Jean R. LOBRY

RE-EVALUATION DU MODELE DE CROISSANCE DE MONOD. EFFET DES ANTIBIOTIQUES SUR L'ENERGIE DE MAINTENANCE

SOUTENUE LE 9 SEPTEMBRE 1991
DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

A. CHERUY
J. DEMONGEOT
J.P.FLANDROIS
E. JOLIVET
A. PAVE

LABORATOIRE DE BIOMETRIE
UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I
43 boulevard du 11 Novembre 1918 - F-69622 VILLEURBANNE CEDEX

REMERCIEMENTS..... 6

ABSTRACT/RESUME 8

PREAMBULE..... 10

1. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE..... 13

1.1 LE MODELE DE CROISSANCE DE MONOD.....13
1.1.1 LE CONTEXTE EXPERIMENTAL.....13
1.1.2 LES PARAMETRES DU MODELE DE MONOD.....20

1.2 LA LENTE EMERGENCE D'UN PARADIGME.....31
1.2.1 UN TRAVAIL NOVATEUR INCOMPRIS.....31
1.2.2 UNE IMPORTANCE ACTUELLE INDENIABLE.....31
1.2.3 DES TRAVAUX PEU CONSULTES.....33
1.2.4 UNE CROISSANCE LENTE MAIS CONSTANTE.....33

1.3 L'UTILISATION DU MODELE DE MONOD.....38
1.3.1 UN CARACTERE SEMIQUANTITATIF PRONONCE.....38
1.3.2 DES APPLICATIONS VARIEES EN MICROBIOLOGIE.....39

1.4 LE SENS PERDU.....41
1.4.1 LA CONFUSION AVEC LE MODELE DE MICHAELIS-MENTEN.....41
1.4.2 LE PRINCIPE DE LA REACTION MAITRESSE.....43
1.4.3 L'HYPOTHESE DE L'ETAT PSEUDO-STATIONNAIRE.....45

1.5 RESUME DU PREMIER CHAPITRE.....48

2. JUSTIFICATION DU MODELE DE MONOD..... 49

2.1 APPROCHE HEURISTIQUE A L'AIDE D'UN AUTOMATE CELLULAIRE.....49
2.1.1 INTRODUCTION.....49
2.1.2 DEFINITION DE L'AUTOMATE CELLULAIRE.....50
2.1.3 COURBES DE CROISSANCE SIMULEES.....51
2.1.4 AJUSTEMENT AU MODELE DE MONOD.....53
2.1.5 CONCLUSION.....55

2.2 JUSTIFICATION FORMELLE.....56
2.2.1 INTRODUCTION.....56
2.2.2 L'APPROXIMATION DU MODELE LOGISTIQUE.....56
2.2.3 L'INTRODUCTION D'UN DELAI.....57
2.2.4 CONCLUSION.....59

2.3 UNE PREDICTION SEMIQUANTITATIVE VERIFIEE.....61

2.4 RESUME DU DEUXIEME CHAPITRE.....62

3. Ks AUGMENTE-T-IL AVEC mmax ? 64

3.1 INTRODUCTION.....64

3.2 IDENTIFIABILITE.....65
3.2.1 INTERET DE L'ETUDE DE L'IDENTIFIABILITE.....65
3.2.2 IDENTIFIABILITE THEORIQUE.....65
3.2.3 IDENTIFIABILITE PRATIQUE.....70
3.2.4 ANALYSE DES FORMES DEGENEREES.....71

3.3 PARAMETRISATION.....80
3.3.1 OBJECTIFS.....80
3.3.2 PARAMETRISATION BIOLOGIQUE.....80
3.3.4 PARAMETRISATION UTILITAIRE.....80

3.4 CHOIX D'UN MODELE D'ERREUR.....85
3.4.1 LE MODELE D'ERREUR HISTORIQUE.....85
3.4.2 MODELE D'ERREUR AVEC FONCTION D'AUTOCORRELATION.....85
3.4.3 MODELE D'ERREUR SUR LE TAUX DE CROISSANCE.....86
3.4.4 UN CAS D'ESPECE : LA TEMPERATURE.....86
3.4.5 LE MODELE D'ERREUR RETENU.....88

3.5 CHOIX D'UN CRITERE D'AJUSTEMENT.....89

3.6 DIMENSIONS ET VALEURS DES PARAMETRES.....89
3.6.1 LE PARAMETRE mmax.....89
3.6.2 LE PARAMETRE Ks.....89

3.7 ESTIMATION DES PARAMETRES.....90

3.8 REGIONS DE CONFIANCE.....90
3.8.1 DEFINITION.....90
3.8.2 ECHANTILLONNAGE ALEATOIRE.....91
3.8.3 TRANSLATION ET MISE A L'ECHELLE.....93
3.8.4 PROJECTION SUR L'HYPERSURFACE.....93
3.8.5 REPRESENTATIONS GRAPHIQUES.....93
3.8.6 EXEMPLES D'APPLICATION.....93

3.9 RESUME DU TROISIEME CHAPITRE.....103

4. ENERGIE DE MAINTENANCE ET ANTIBIOTIQUES..... 104

4.1 L'ENERGIE DE MAINTENANCE.....104
4.1.1 UNE NOTION DEJA ANCIENNE.....104
4.1.2 MISE EN EVIDENCE ET MESURE.....106
4.1.3 CONSEQUENCES PRATIQUES.....112

4.2 ENERGIE DE MAINTENANCE EN PRESENCE D'ANTIBIOTIQUES.....120
4.2.1 DIFFICULTES RENCONTREES.....120
4.2.2 RESULTATS.....122
4.2.3 MODELISATION DE LA RELATION DOSE-EFFET.....124

4.3 RESUME DU QUATRIEME CHAPITRE.....131

5. CONCLUSION GENERALE..... 132

5.1 RE-EVALUATION DU MODELE DE MONOD....132
5.2 EFFET DES ANTIBIOTIQUES SUR L'ENERGIE DE MAINTENANCE....134

6. ANNEXES 135

6.1 DIATOM/P....135
6.2 LISTE DES FIGURES....137
6.3 E.COLI/TEMP....138
6.4 MESA....139
6.5 MONOD/CHRONIQUE....140
6.6 MUMAX/KS....141
6.7 S.AUREUS/PYRUVATE....151
6.8 S.TYPHIMURIUM/GLUCOSE....152
6.9 E.COLI/TEST....153
6.10 VALEURS DES PARAMETRES....155
6.11 PARAMETRES MONOD E. COLI GLUCOSE....159
6.12 ENERGIE DE MAINTENANCE....160

7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.... 161

8. INDEX.... 175

REMERCIEMENTS

Le soutient logistique de ce travail a été assuré par la Société BioMérieux. Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères à la Direction de la Société pour m'avoir accordé la possibilité et les moyens d'effectuer ce travail.

Monsieur le Professeur Jean-Marie Legay m'a accueilli 1987 dans le laboratoire de Biométrie qu'il a créé à Lyon. Ses cours de troisième cycle resteront toujours pour moi l'exemple de ce qu'est un enseignement de qualité, assez éloigné il est vrai de la propédeutique ingénieurisante que les miasmes conjoncturels tendent à nous imposer.

Je suis profondément reconnaissant au Professeur Alain Pavé d'avoir suivi avec bienveillance mon travail depuis ses tous premiers débuts, et d'avoir guidé mes pérégrinations dans les arcanes du laboratoire. Je le remercie vivement pour cet intérêt soutenu qu'il a témoigné.

Je remercie Monsieur le Professeur Jacques Demongeot d'avoir accepté de rapporter sur ce travail et pour la leçon d'humilité qu'il m'a donnée en exposant en cinq minutes ce que j'avais mis péniblement un an à construire (!). Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude pour son amicale disponibilité.

Madame le Professeur Arlette Chéruy a bien voulu rapporter sur ce travail. Je tiens à la remercier pour ses critiques, ses suggestions et les conseils qu'elle m'a prodigués lors de la lecture du manuscrit. Ce travail lui doit à l'évidence beaucoup tant sur la forme que sur le fond.

Je remercie également Messieurs les Professeurs Guy Van Steenkiste et Emmanuel Jolivet d'avoir accepté de juger ce travail, et de m'avoir accueilli dans leur laboratoire pour en discuter.

Enfin, le suivi quasi-journalier de cette thèse a été assuré par Monsieur le Professeur Jean-Pierre Flandrois. Je ne sais comment le remercier pour le temps qu'il a bien voulu me consacrer. J'ai beaucoup appris en travaillant avec lui.

Mes remerciements vont également à Monsieur Gérard Carret pour son esprit stimulant, à Madame Catherine Pichat pour sa gentillesse et sa compétence technique, à Madame Monique Keranpran pour son constant soutient, ainsi qu'à toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont aidé.

ABSTRACT/RESUME

The experimental background and the biological underlying assumptions of Monod's bacterial growth model are presented. The success of this model, its main fields of application, the variability of its parameter values, and the growth of its impact are documented. There is a strong feeling that Monod's model cannot be justified in the same way as the traditional Michaelis and Menten's model for enzyme kinetics.

These problems led us to propose an alternative justification of Monod's model based on the introduction of a delay into a simple differential equation corresponding to the logistic growth model. This predicts that parameter <<Ks>> should increase with parameter <<mumax>>. A re-examination of data from literature shows that <<Ks>> usually increases with <<mumax>> though this fact was overlooked. However, as parameter values are almost always reported without their confidence limits, it is impossible to estimate the significance of this link.

In order to test the increase of <<Ks>> with <<mumax>>, Escherichia coli K12 CIP 54117 was grown in two different synthetic growth media with glucose as limiting nitrient. Experimental data are not in contradiction with an increase of <<Ks>> with <<mumax>>. Hence, the parameter <<Ks>> may no longuer be considered to be a physiological constant. Healey's ratio <<mumax/Ks>> should therefore be used to characterize the affinity of a bacteria for its substrate.

The maintenance requirement of a microbial population can be determined using Monod's relationship from batch culture data. It can be used to characterize the effect of sub-inhibitory concentrations of antibiotics on microbial growth. An exponential increase of maintenance requirements with antibiotic concentration is typically observed.

Le contexte expérimental et les hypothèses biologiques sous-jacentes du modèle de croissance Monod sont présentées. L'importance de ce modèle, ses principaux champs d'application, la variabilité de la valeur de ses paramètres, ainsi que la dynamique de la croissance de son impact sont exposés. Ce modèle était supposé se justifier de façon analogue au modèle de Michaelis et Menten, mais cette approche soulève plusieurs difficultés.

Nous montrons comment le modèle de Monod peut être obtenu à partir du modèle de croissance logistique, avec pour corollaire la prédiction inattendue d'une augmentation apparente de la valeur du paramètre <<Ks>> avec le paramètre <<mumax>>. Une ré-examination des résultats publiés montre que cette tendance est observée. Il est cependant difficile de savoir si ces résultats sont réellement probants.

Pour tester l'hypothèse de l'augmentation de la valeur du paramètre <<Ks>> avec le paramètre <<mumax>>, nous avons estimés ces deux paramètres pour Escherichia coli K12 CIP 54117 cultivé dans deux milieux de culture pour modifier la valeur du paramètre <<mumax>>. Les résultats expérimentaux ne semblent pas être en contradiction avec la prédiction faite. Le paramètre <<Ks>> ne devrait plus être considéré comme une constante physiologique, et le rapport de Healey <<mumax/Ks>> lui être préféré pour caractériser l'affinité des micro-organismes pour un substrat limitant.

L'énergie de maintenance d'une population de micro-organismes peut être déterminée avec une relation développée par Monod. Les conditions de son utilisation pour caractériser l'effet des antibiotiques sur la croissance sont précisées. Une augmentation exponentielle de l'énergie de maintenance avec la concentration en antibiotique est fréquemment observée.

PREAMBULE

Le modèle de croissance de Monod donne une relation entre le taux de croissance μ d'une population de micro-organismes et la concentration s en substrat limitant,

$$\mu = \mu_{max} \frac{s}{K_s + s} \quad ,$$

où μ_{max} représente le taux de croissance maximum et K_s la concentration en substrat telle que le taux de croissance soit demi-maximal. Ce modèle est couramment utilisé dans tous les secteurs de la microbiologie. Plus précisément, 1800 publications scientifiques font explicitement référence aujourd'hui aux travaux de Monod. D'un tel modèle, soumis à la question depuis maintenant cinquante ans, il était à craindre que toute la substantifique mœlle n'en ait déjà été extraite. En contrepartie, il y avait là un défi à relever : le contenu d'une expression mathématique, nous dit Monod dans sa thèse, est toujours beaucoup plus riche que ne le croit, en général, son auteur. Il était donc tentant d'essayer d'appliquer cet aphorisme au modèle de Monod lui-même.

Plusieurs travaux antérieurs du laboratoire utilisant le modèle de Monod avaient laissé en suspens la question du bien fondé de l'analogie entre le modèle de Monod et celui de Michaelis et Menten. La sensibilité à ce problème était exacerbée en raison d'un axe thématique privilégié : celui de l'effet des agents anti-bactériens sur la croissance. Dans ce contexte, il était tentant de transposer directement les modèles d'inhibition enzymatique en modèles d'inhibition de la croissance. Encore fallait-il commencer par légitimer le passage du modèle de Michaelis et Menten à celui de Monod. Il était donc indispensable de savoir comment cette analogie, trop criante pour échapper à quiconque, avait été analysée au préalable par les utilisateurs du modèle de Monod. Cette communauté ayant depuis longtemps éclaté en plusieurs sous-ensembles disjoints, nous avons opté pour une stratégie d'échantillonnage transversal pour ne pas se cantonner, comme dans les recherches bibliographiques traditionnelles, à l'exploration diachronique d'un sous-groupe particulier.

Il va de soi, qu'en plus de cette motivation initiale, à l'origine de l'exploration bibliographique, des raisons annexes allaient bientôt renforcer l'élan. En premier lieu, il nous fallait savoir qui utilisait le modèle de Monod, et dans quels buts. Ensuite, nous avions là l'occasion, unique, de collecter les valeurs des paramètres du modèle de Monod pour des matériels biologiques variés. Cette dernière visée était double : il s'agissait d'une part d'analyser la variabilité de la valeur des paramètres, et d'autre part de disposer de jeux de valeurs réalistes d'un point de vue biologique, leur absence se faisant cruellement sentir lors de la simulation de modèles plus complexes. Enfin, il subsistait la question, intrigante de par son aspect quasi auto-référentiel, de la croissance de l'impact d'un modèle de croissance. En définitive, les références bibliographiques collectées étaient susceptibles d'intéresser des personnes travaillant sur des thématiques imprévisibles. Il fallait donc s'attacher à la mise à disponibilité des références brutes, sans grille de lecture imposée, sous la forme d'une banque de références bibliographiques informatisée pour être facilement exploitable.

Pour ce qui est de l'analogie entre le modèle de Michaelis et Menten et celui de Monod, l'exploration de la littérature n'allait laisser qu'un sentiment de malaise profond et de mauvais augure. A son origine, le déséquilibre inquiétant entre le recours fréquent à l'analogie d'une part, et l'absence de toute justification théorique d'autre part. Quelques voix courageuses avaient bien dénoncé cet état de fait, mais sans se faire entendre, tant le passage entre les deux modèles semblait naturel, légitime, voire établi. En fait, pour des raisons difficiles à admettre quand elles ne vont pas dans le sens attendu, nous allions nous convaincre progressivement que cette analogie était artificielle. Ce résultat, même négatif, restait toujours un résultat, mais il bloquait toute tentative de progression ultérieure.

Il fallait donc changer de perspective. Nous voulions justifier le passage du modèle de Michaelis et Menten au modèle de Monod. Mais que voulions nous exactement ? Certainement l'analogue de l'article de Briggs et Haldane, c'est à dire la justification théorique d'un modèle phénoménologique. La problématique réelle était donc de savoir si une telle justification était possible. Rien n'imposait de partir du modèle de Michaelis et Menten. Ainsi reformulé, le problème pouvait être abordé de façon différente. Nous nous sommes alors tournés vers la définition et la simulation d'un modèle "microscopique" de la croissance et par son analyse au niveau "macroscopique". Cette approche allait se révéler fructueuse en suggérant une justification plus formelle du modèle de Monod, la référence au modèle "microscopique" s'avérant a posteriori être superflue.

Ce qui n'était pas prévisible, c'est que la justification formelle du modèle de Monod allait ouvrir de nouvelles perspectives. En effet, si elle était exacte, alors un corollaire immédiat était qu'une augmentation apparente de la valeur du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max} devait être observée. Ce résultat étant inattendu, la question qui passait au premier plan était naturellement de savoir dans quelle mesure cette prédiction était exacte. Les données de la littérature n'étaient pas suffisamment probantes, il nous fallait donc chercher quelle expérience, techniquement réalisable au laboratoire, serait à même de produire les données nécessaires.

A ce stade, le caractère non-linéaire du modèle de Monod imposait des choix techniques délicats et incontournables. Pour pouvoir analyser les résultats, il devenait important de s'interroger sur le réalisme des hypothèses sous lesquelles sont conduites les inférences statistiques. Le passage sous ces fourches caudines allait nous ramener par un heureux et tortueux détour au problème originel, celui de l'analyse des courbes de croissance en présence d'agents anti-bactériens. En effet, la confrontation des exigences de la modélisation aux possibilités, parfois insuffisantes, de l'expérimentation posait le problème de la conciliation entre ces deux extrêmes. Il nous fallait alors simplement tenter de dégager une voie moyenne.

En résumé, cette thèse comporte deux parties assez différentes dans leur approche de la croissance microbienne et de sa modélisation. La première partie illustre la "tentation du physicien" qui existe chez de nombreux biologistes, et ici l'utilisation de la fameuse démarche hypothético-déductive. Dans un premier chapitre, bibliographique, l'importance du modèle de Monod est soulignée, dans un deuxième chapitre, théorique, une déduction à partir d'hypothèses simples est conduite, et dans un troisième chapitre, expérimental, la validité de cette déduction est testée. Le modèle est considéré ici comme un objectif que l'on cherche à atteindre. En revanche, la démarche suivie dans la deuxième partie est beaucoup plus descriptive puisque l'on ne cherche qu'a se donner les moyens de quantifier l'effet des antibiotiques sur la croissance des micro-organismes. Le modèle est utilisé ici en tant qu'outil descriptif. La raison de la différence dans la profondeur de l'analyse entre les deux parties est que le modèle de Monod est utilisé depuis maintenant 50 ans alors que la modélisation de l'effet des antibiotiques n'en est qu'à ses balbutiements.

1. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

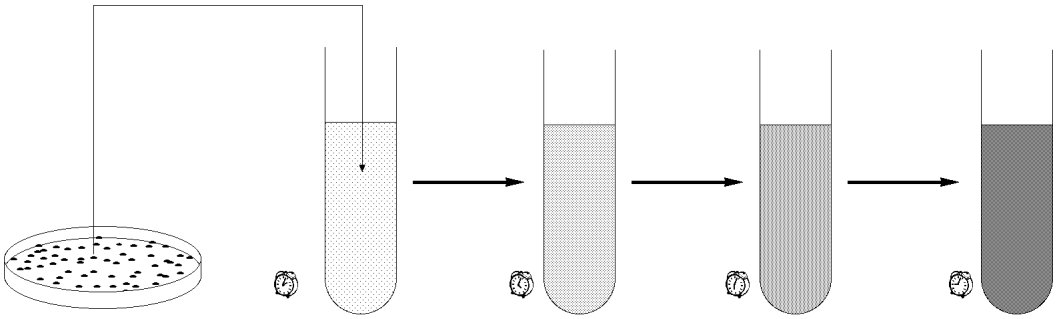
ou LE SENS PERDU DU MODELE DE MONOD

1.1 LE MODELE DE CROISSANCE DE MONOD

1.1.1 LE CONTEXTE EXPERIMENTAL

1.1.1.1 LE PHENOMENE DE CROISSANCE

Le modèle proposé par MONOD (1941) est utilisé pour rendre compte de la croissance des micro-organismes. Il s'agissait, à l'origine, de modéliser cette croissance dans un milieu non renouvelé, ce qui dans le jargon des laboratoires correspond à l'analyse des "cultures en batch", terme que les québécois rendent plus joliment par "cultures en cuvée" (e.g. MAYER et al. 1982).



Une expérience type, schématisée ci-dessus, consiste à ensemencer un milieu de culture en y diluant une colonie bactérienne isolée sur un milieu gélosé (boîte de Petri).

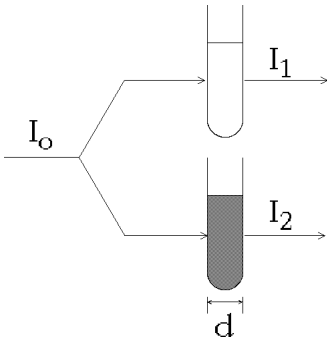
Avec le temps, un trouble apparaît dans le milieu, puis une opalescence de plus en plus marquée se développe, signe caractéristique de la croissance de la population. De par son effet amplificateur, la croissance des micro-organismes est une technique omniprésente en microbiologie (MONOD 1949).

1.1.1.2 LA MESURE DE LA BIOMASSE

La mesure de l'opacification du milieu de culture est une technique très prisée pour mesurer la biomasse, c'est à dire la masse bactérienne sèche présente par unité de volume (ML^{-3}). Il est en effet possible d'utiliser une loi, analogue à celle de Beer-Lambert, exprimant la proportionnalité entre la contribution bactérienne à l'absorbance du milieu A et la biomasse B présente en solution,

$$A = \text{Log}\frac{I_o}{I_2} - \text{Log}\frac{I_o}{I_1} = \text{Log}\frac{I_1}{I_2} = \alpha\ d\ B \qquad [I.1],$$

où I_o représente l'intensité lumineuse du rayon incident, I_1 l'intensité du rayon transmis en l'absence de biomasse, I_2 l'intensité du rayon transmis en présence de biomasse, d la longueur du trajet optique, et α un coefficient de proportionnalité.



L'absorbance est rapportée conventionnellement à un trajet optique de 1 cm pour définir la densité optique (DO) du milieu :

$$DO = \frac{1}{d}\ \text{Log}\frac{I_1}{I_2} = \alpha\ B \qquad [I.2].$$

Cette relation empirique a été vérifiée expérimentalement par de nombreux auteurs (MONOD 1941, TOENNIES et GALLANT 1949, SCHAECHTER *et al.* 1958, LUEDEKING et PIRET 1959, SPAUN 1962, DEAN et ROGERS 1967, KOCH 1970, GRIFFITH et MELVILLE 1974). Une modification de cette loi a été proposée par KOCH (1970) pour tenir compte d'un infléchissement de la courbe d'étalonnage aux fortes concentrations,

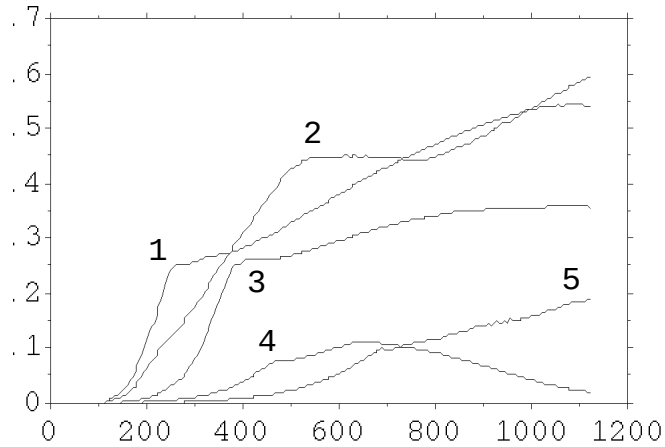
$$DO = \alpha\ B - \beta\ B^2 \qquad [I.3],$$

mais la correction reste minime pour les faibles concentrations (moins de 5% en deça de 0.1 $mg.l^{-1}$ de biomasse).

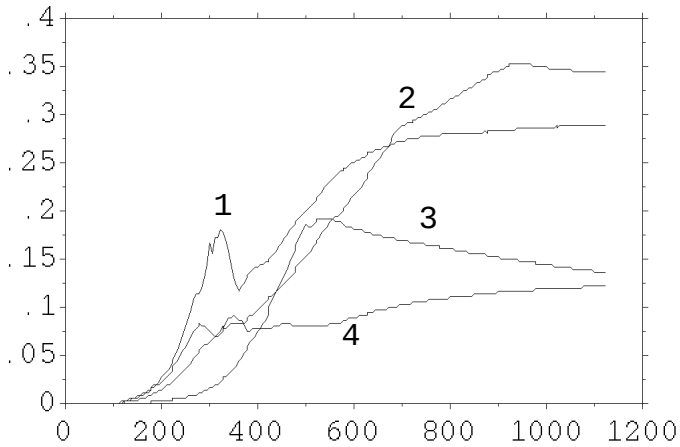
Fig. 1.1

EXEMPLES DE COURBES DE CROISSANCE

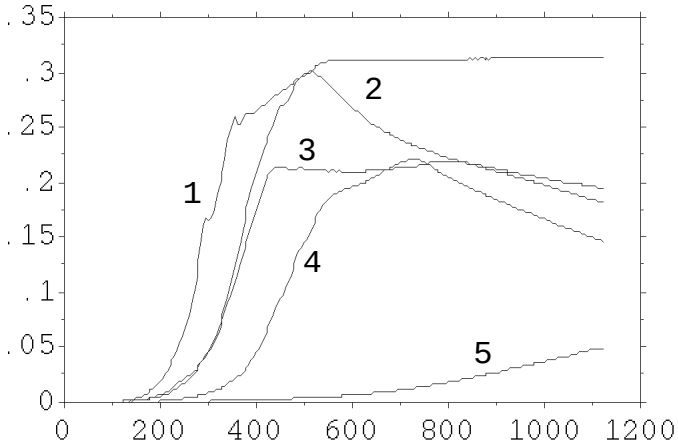
Courbes de croissance de divers souches bactériennes dans le milieu MOPS (NEIDHARDT et al. 1974) avec une concentration en glucose de 0.1 g/l. Le temps est indiqué en minutes et la biomasse par sa contribution à la densité optique du milieu (λ = 670 nm).



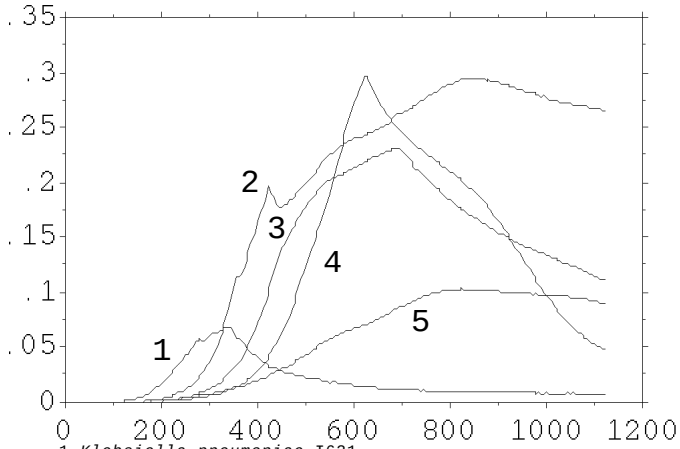
1 *Klebsiella pneumoniae* III435
2 *Acinetobacter calcoaceticus* I173
3 *Aeromonas hydrophyla* I171
4 *Staphylococcus aureus* I211
5 *Pseudomonas maltophilia* I212



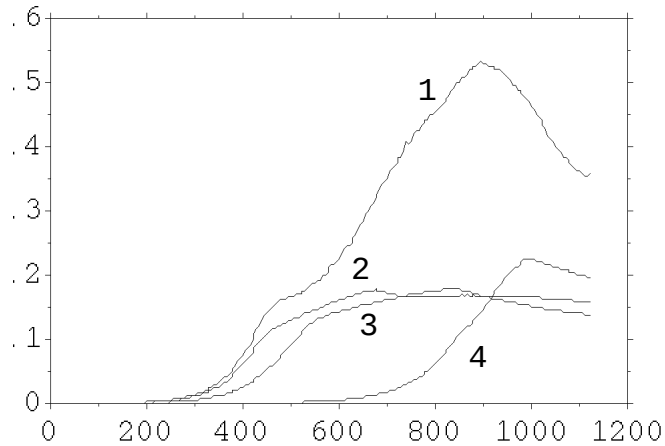
1 *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 I2103
2 *Serratia marcescens* ATCC 264 I2106
3 *Proteus vulgaris* ATCC 13315 I314
4 *Citrobacter freundii* ATCC 14135 I311



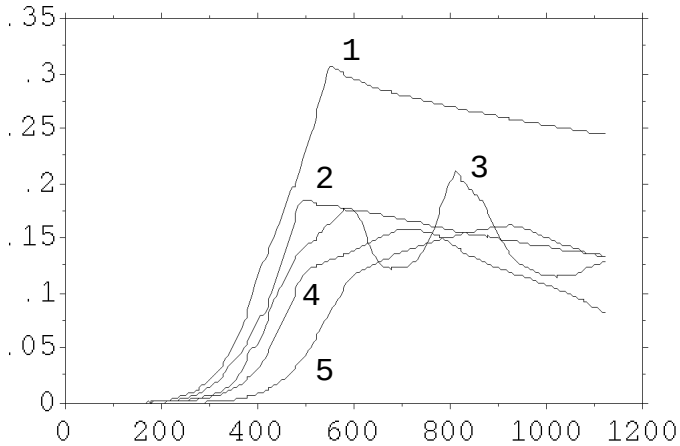
1 *Enterobacter cloacae* I354
2 *Staphylococcus sciuri* ATCC 29062 I551
3 *Proteus vulgaris* I353
4 *Staphylococcus intermedius* CCM 5739 I543
5 *Staphylococcus cohnii* I546



1 *Klebsiella pneumoniae* I631
2 *Shigella flexneri* I634
3 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 I553
4 *Staphylococcus warneri* ATCC 27836 I552
5 *Staphylococcus simulans* ATCC 27848 I554



1 *Pseudomonas cepacie* II313
2 *Staphylococcus aureus* I1061
3 *Staphylococcus aureus* I1064
4 *Staphylococcus epidermidis*



1 *Providencia stuartii* III336
2 *Escherichia coli* III434
3 *Pseudomonas aeruginosa*
4 *Staphylococcus aureus*
5 *Staphylococcus aureus*

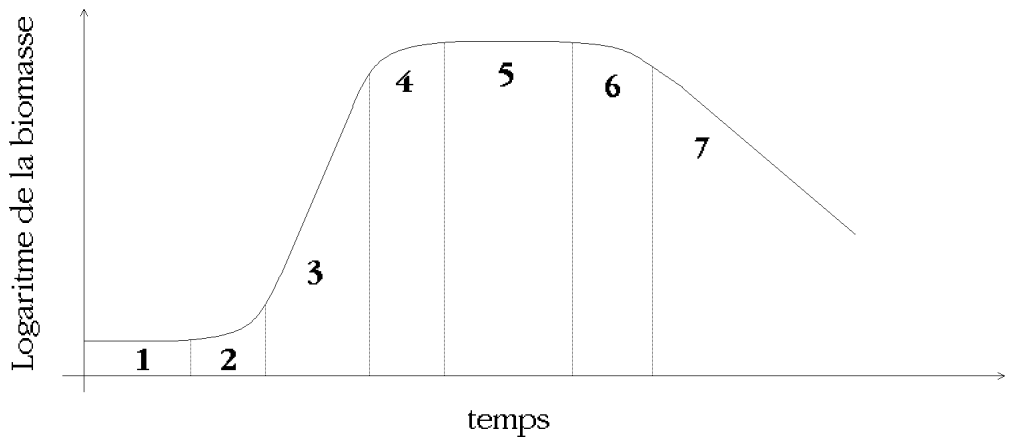
La justification de la relation empirique [I.2] est plus complexe à établir que pour loi de Beer-Lambert parce qu'il faut considérer le cas de suspensions de micro-organismes et non pas de solutions de molécules absorbantes. C'est un phénomène de diffraction qui est à l'origine de l'extinction du rayon lumineux transmis : les micro-organismes, sauf cas particuliers liés à la synthèse de pigments, n'absorbent presque pas la lumière dans le visible. Dans ces conditions il serait logique que l'absorbance soit proportionnelle au nombre de cellules en solution (et non pas à la biomasse comme cela est observé). Il faut attendre les travaux de KOCH (1961, 1968) pour avoir une explication de ce paradoxe : les dimensions des bactéries étant du même ordre de grandeur que la longueur d'onde de la lumière dans le visible, deux petites bactéries diffractent quasiment autant de lumière qu'une seule bactérie de masse double.

Comme le montrent bien les revues générales de HARRIS et KELL (1985) et de OWENS et LEGAN (1987), la mesure de la densité optique du milieu de culture n'est pas la seule technique disponible pour mesurer la biomasse. Cependant, la facilité de sa mise en œuvre et son absence d'interférence avec les conditions in situ expliquent sa prééminence dans les études de croissance de population de micro-organismes (GREENWOOD 1977). C'est cette solution qui a été retenue ici pour mesurer la biomasse.

Notons enfin que, dans le meilleur des cas, la sensibilité des appareils de mesure permet d'apprécier des variations de biomasse de l'ordre de 10^{-8} $g.l^{-1}$, à comparer avec l'incrément que représente la masse d'une molécule de glucose : $3.\ 10^{-22}$ g. Autrement dit, même si théoriquement la biomasse augmente par paliers au cours de la croissance, l'utilisation de variables continues sera toujours largement justifiée à l'échelle de l'observation.

1.1.1.3 LA CROISSANCE : PHASES ET VARIABILITE

Les livres de microbiologie fournissent tous la même courbe de croissance standard, établie par BUCHANAN en 1918.



Les 7 phases de la croissance définies par BUCHANAN (1918) : 1 Phase initiale stationnaire. 2 Phase d'accélération de la croissance. 3 Phase de croissance exponentielle. 4 Phase de décélération de la croissance. 5 Phase stationnaire. 6 Phase d'accélération de la décroissance. 7 Phase de décroissance exponentielle.

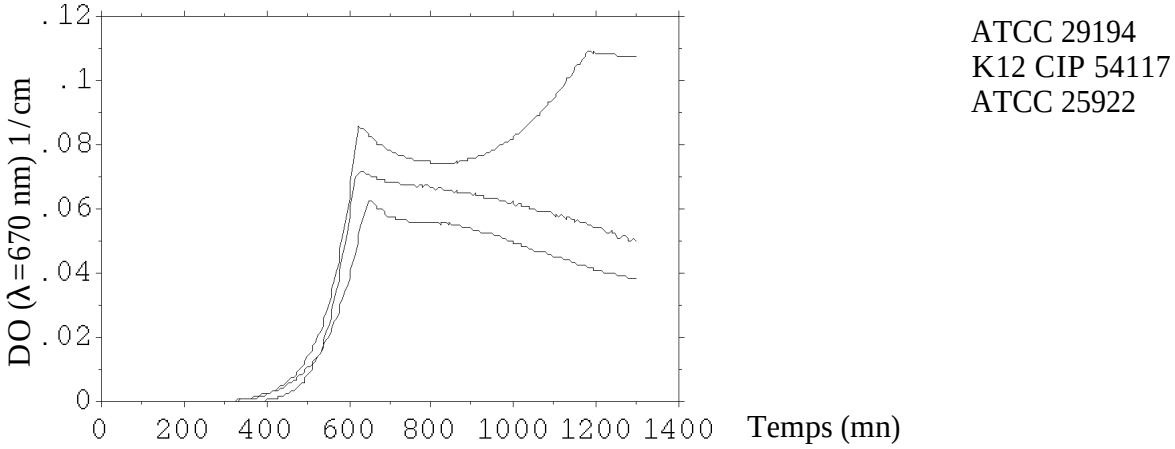
L'augmentation de la fréquence d'échantillonnage, facilitée par l'automatisation des mesures, a permis de multiplier les points expérimentaux et de montrer que les courbes de croissance sont plus complexes que ne le laisse supposer ce schéma. Dans les exemples de la figure 1.1, où une mesure est effectuée toutes les 300 secondes, les phases de croissance et de décroissance peuvent parfois être décomposées en plusieurs périodes de régime différent. Avec une mesure toutes les 200 secondes, WANG et KOCH (1978) observent la même chose pour Escherichia coli ML308.

Toutes les phases de croissance ont eu leur époque de gloire (WANNER et EGLI 1990). Dans les années 30 l'accent était mis sur la phase de latence (la phase 1 ou les phases 1 et 2 de Buchanan selon les auteurs), dans les années 40 sur la phase de croissance exponentielle et de décélération (3 et 4), et pendant les années 50-70 la phase de croissance exponentielle fut explorée de façon intensive.

Dans un effort de standardisation des conditions expérimentales, la phase de croissance exponentielle a été choisie comme phase de référence physiologique, et l'emploi de milieux synthétiques simples s'est généralisée. Cependant, il faut savoir que même en utilisant un milieu de croissance minimal ne comportant qu'une seule source de carbone et d'énergie comme dans le milieu M63 (HERZENBERG 1959) supplémenté en thiamine,

KH_2PO_4	13.6 g
$(NH_4)_2SO_4$	2 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2 g
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5 mg
Thiamine	40 µg
KOH	3.0 g (pH 7.2)
Glucose	0.1 g
H_20	qsp 1000 ml

des phénomènes complexes peuvent intervenir. Par exemple, chez Escherichia coli, on peut observer (souche ATCC 29194) ou ne pas observer (souche CIP 54117 et ATCC 25922) une seconde phase de croissance après l'épuisement du glucose :



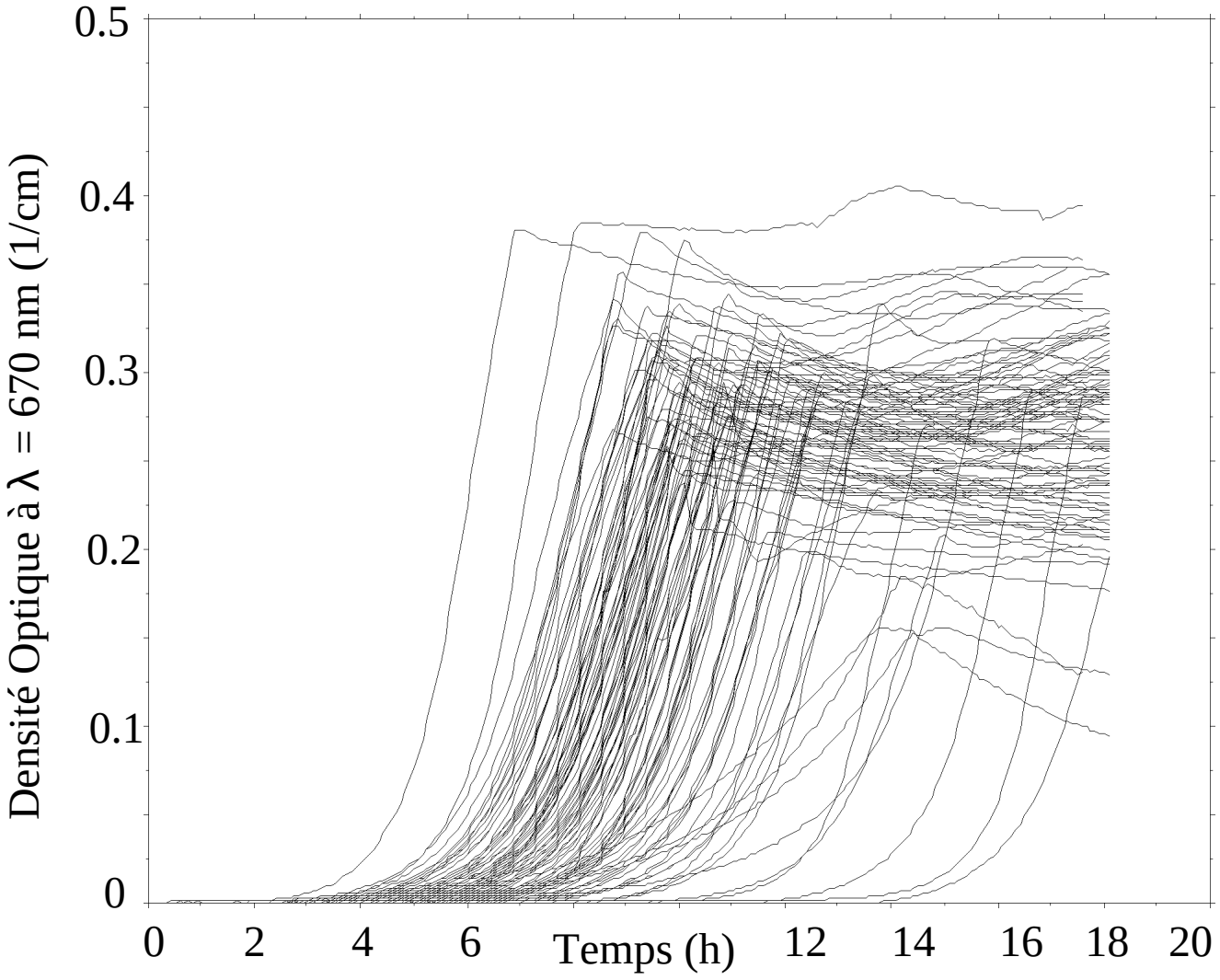
Cette deuxième phase correspond à la réutilisation des produits de fin de métabolisme, principalement de l'acide acétique (HOLMS 1986), produits durant la première phase de croissance. Ces deux phénotypes, la réutilisation ou non de l'acide acétique, existent chez Escherichia coli (GOLOVLEV et al. 1986, LULI et STROHL 1990). Cet exemple avait pour objet de rappeler que même dans un milieu synthétique simple la réalité est parfois plus complexe que ne le laissent entendre les modèles de croissance. Pour paraphraser Picasso nous dirions avec SEGEL (1984) que les modèles ne sont que les mensonges qui nous permettent d'appréhender la réalité.

Enfin, dans le même ordre d'idée, il ne faut pas perdre de vue qu'il existe une variabilité intra-spécifique importante (*cf.* Fig. 1.2) pour le phénomène de croissance. Dans le cas des procaryotes, la définition biologique de l'espèce (basée sur la présence ou l'absence de panmixie au sein des populations qui la composent) ne pouvant plus s'appliquer, un facteur d'indétermination supplémentaire vient encore s'ajouter.

Fig. 1.2

EXEMPLE DE VARIABILITE INTRASPECIFIQUE DE LA CROISSANCE

La croissance de 118 isolats cliniques distincts de *Escherichia coli* a été suivie en milieu synthétique minimum M63 supplémenté en thiamine et avec une concentration en glucose de 0.5 g/litre. 102 souches ont poussé dans ce milieu.



1.1.2 LES PARAMETRES DU MODELE DE MONOD

1.1.2.1 FORMULATION DU MODELE

Le modèle de MONOD (1941) est utilisé pour rendre compte des phases 3 à 5 de la croissance. Les phases de latence (phases 1 et 2) et de décroissance (phases 6 et 7) ne sont pas considérées. D'un point de vue purement formel, le modèle peut s'écrire sous la forme suivante :

$$\frac{dx}{dt} = \Theta_1 \, x \frac{(\Theta_3 - x)/\Theta_4}{\Theta_2 + (\Theta_3 - x)/\Theta_4} \qquad \text{[I.4]},$$

où Θ_1, Θ_2, Θ_3 et Θ_4 sont des paramètres positifs. Les personnes familières avec le modèle de Monod auront du mal à le reconnaître ici parce que les notations ne sont pas habituelles. Nous allons introduire progressivement des notations plus conventionnelles.

1.1.2.2 LA VARIABLE D'ETAT x.

La variable d'état x représente la masse de la population de micro-organismes présente dans un volume donné de milieu de culture. On la note le plus souvent B (pour Biomasse) ou encore [B] pour rappeler qu'il s'agit d'une concentration. Elle s'exprime en grammes de masse bactérienne sèche par litre, ou plus fréquemment par la densité optique (cm^{-1}) du milieu. Pour donner un ordre de grandeur, une valeur de 1 $g.l^{-1}$ est assez typique pour une population obtenue après culture dans un milieu ordinaire. Une colonie sur une boîte de Petri compte environ 10^8 bactéries dont la masse individuelle est de l'ordre de 10^{-12} g. La biomasse maximale physiquement possible se situe aux alentours de 300 $g.l^{-1}$. Nous pouvons maintenant réécrire l'équation [I.4] pour mettre en évidence la signification biologique de la variable d'état :

$$\frac{dB}{dt} = \Theta_1 \, B \frac{(\Theta_3 - B)/\Theta_4}{\Theta_2 + (\Theta_3 - B)/\Theta_4} \qquad \text{[I.5]}.$$

Nous avons fait là plus qu'un simple changement de variable car nous avons précisé les unités de B, son accessibilité à la mesure, et le domaine physiquement possible pour ses valeurs. Nous introduisons ainsi des contraintes supplémentaires qui ne figuraient pas dans l'équation [I.4]. Ces problèmes sont plus importants qu'il n'y parait : c'est précisément pour une question d'homogénéité dans l'équation que VERHULST est revenu (1847) sur son premier travail (1845) concernant le modèle de croissance logistique (SCHTICKZELLE 1981). De plus, il est important de bien délimiter le domaine biologique d'application du modèle, car comme le faisait remarquer TEISSIER (1936) : "pour avoir voulu trouver d'emblée une loi de croissance applicable indifféremment aux êtres les plus dissemblables, trop de théoriciens se sont condamnés à ignorer les modalités des développements les plus simples".

1.1.2.3 LE PARAMETRE Θ_3.

Il devient clair en examinant l'équation [I.5] que le paramètre Θ_3 représente la biomasse maximale, notée B_m, puisque la vitesse d'apparition de la biomasse devient

nulle quand cette valeur est atteinte. Les unités de B_m sont les mêmes que celles de B. Les valeurs de B seront donc toujours inférieures à B_m.

$$\frac{dB}{dt} = \Theta_1 B \frac{(B_m - B)/\Theta_4}{\Theta_2 + (B_m - B)/\Theta_4} \qquad [I.6]$$

Nous nous intéressons ici à la croissance observée dans des cultures en cuvée, il est donc normal que tôt où tard la population atteigne une valeur maximale. Ce cas est historiquement le premier envisagé par MONOD (1941), et la modélisation des cultures en continu, où le milieu est constamment renouvelé, n'est qu'une extension naturelle de la situation présente (MONOD 1950).

1.1.2.4 LE PARAMETRE Θ_4.

La notion de substrat limitant

Un substrat est dit limitant s'il existe une relation de cause à effet entre l'épuisement de ce substrat et l'arrêt de la croissance. Ce n'est pas la seule cause possible de l'arrêt de la croissance des micro-organismes : on peut par exemple envisager une accumulation de toxines produites par les individus, des variations de pH induites par un produit de fermentation (acide lactique, acide acétique), ou encore l'épuisement de l'oxygène. Mais dans les conditions qui prévalent en milieu liquide synthétique (SINCLAIR et STOKES 1962), à la différence des cultures sur milieu gélosé (PIRT 1967, HOCHBERG et FOLKMAN 1972, RIECK et al. 1973, PETERS *et al.* 1987, CRITCHLEY et BASKER 1988) ou en bouillon non défini (WANG et KOCH 1978, FRETER et OZAWA 1963, VOLCKMANN 1988), c'est l'épuisement d'un substrat limitant qui arrête la croissance. Ce concept fondamental, introduit très tôt par MONOD (1935, 1936), est une caractéristique du modèle qui le différencie nettement des modèles de croissance classiques.

La nature chimique du substrat limitant est très variable car fonction des objectifs de l'expérimentateur. Il s'agit très souvent de la source principale de carbone et d'énergie (glucose, glycérol, lactose, acide lactique, fructose, maltose, saccharose, méthanol,…) ou de la source d'azote (nitrate, tryptophane, arginine,…). Dans le cas des écosystèmes aquatiques les sources de phosphore, d'azote et de silicium sont des objets d'étude privilégiés car ils déterminent pour une grande part les espèces prédominantes dans le milieu. Les résultats intéressent alors les scientifiques prenant des décisions relatives à la gestion de l'environnement ainsi que les paléoécologistes qui utilisent les restes fossiles des algues (e.g. les frustules des diatomées) comme des indicateurs des environnements ancestraux (TILMAN et al. 1982). Les vitamines (thiamine, vitamine B_{12},…), les micro-éléments (Mg^{++}, K^+,…), ainsi que des composés que l'on cherche à faire dégrader activement dans des buts de détoxification[1] sont également étudiés en tant que substrats

[1] Citons le cas des composés aromatiques soufrés (e.g. le naphtalène-2-sulfonate) qui représentent 7 à 15% de la pollution par des composés organiques dans les eaux du Rhin (WAGNER et HEMPEL 1988), ou encore celui de l'acide 2,4-Dichlorophénoxyacétique (KLECKA et MAIER 1988, LEGUAY et GUERN 1975, PAPANASTASIOU et MAIER 1983, PAPANASTASIOU 1982, SHALER et KLECKA 1986).

limitants. Enfin, dans le cas des relations de type prédateur-proie, on peut considérer la proie comme étant un substrat limitant pour son prédateur[2].

La constance du rendement

On note généralement S la concentration en substrat limitant dans le milieu à un instant quelconque, et S_o sa concentration initiale. L'hypothèse du rendement constant (cf. Fig. 1.7) suppose que la biomasse produite soit proportionnelle au substrat consommé :

$$R(S_o - S) = B - B_o \qquad [I.7]$$

Le facteur de proportionnalité, R, est souvent appelé le rendement de la conversion du substrat en biomasse. Ses dimensions dépendent des unités choisies pour B et S, car il ne s'agit en définitive que d'un facteur de conversion permettant d'exprimer la biomasse en unités de substrat, et réciproquement. Un grand nombre de valeurs publiées pour le rendement ont été rassemblées par GOMMERS et al. (1988). Quand le substrat limitant est la source principale de carbone et d'énergie, et c'est ainsi que l'entendait MONOD (1941b), le sens de R est effectivement proche de ce que l'on entend généralement par rendement : si 1 g de glucose permet de produire 0.5 g de Escherichia coli, le rendement est de 50%. En revanche, dans le cas où le substrat limitant ne compte que pour une fraction minime de la biomasse, c'est le cas pour les vitamines, il dépasse les 100%, et son sens n'est plus très standard. Aussi est il préférable de ne voir dans le paramètre R qu'un facteur exprimant la sensibilité pondérale de la biomasse au substrat limitant considéré. Comme le soulignent WANNER et EGLI (1990), l'hypothèse de la constance du rendement n'a été bien vérifiée que lorsque le substrat limitant est la source principale de carbone et d'énergie. Par exemple, dans le cas de la croissance de Klebsiella pneumoniae ces auteurs observent une multiplication par 6 de la biomasse après épuisement du phosphate.

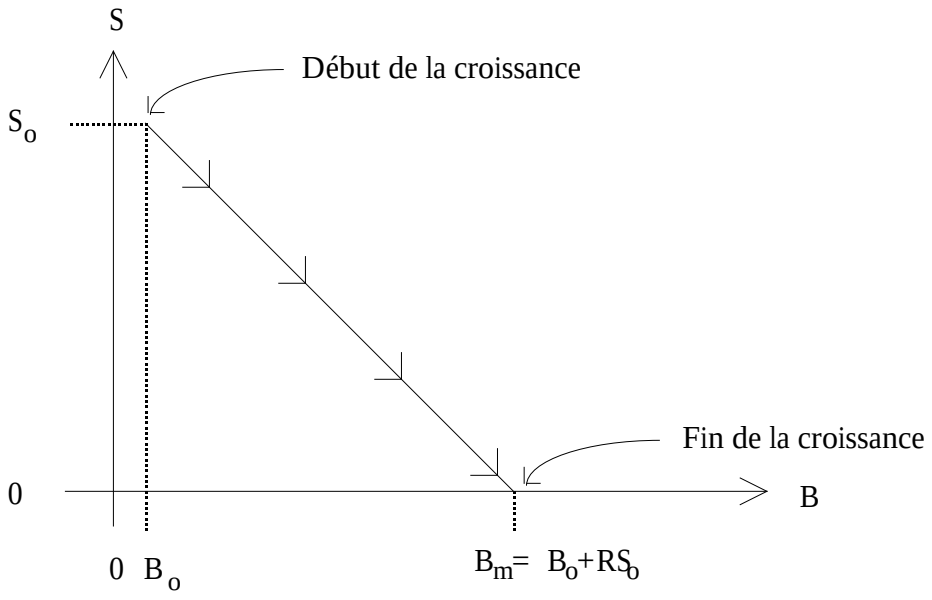
---

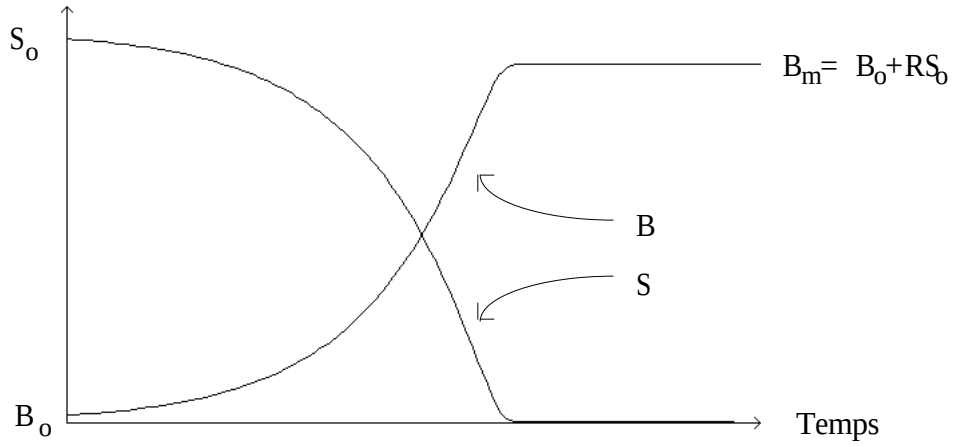
[2] Par exemple *Monoraphidium minutum* ou *Chlamydomonas sphaeroides* pour *Brachionus rubens* ou *Brachionus calyciflorus* (ROTHHAUPT 1988), *Klebsiella aerogenes* pour *Tetrahymena pyriformis* (CURDS et COCKBURN 1968), *Escherichia coli* pour *Bdellovibrio bacteriovorus* (CROWLEY et al. 1980) ou *Colpoda steinii* (DRAKE et TSUCHIYA 1977), *Chlorella sp.* pour *Brachionus plicatilis* (ENDO et MOCHIZUKI 1979), *Escherichia coli* pour *Dictyostelium discoideum* (TSUCHIYA *et al.* 1972, DENT *et al.* 1976, BAZIN 1978).

Fig. 1.3

L'HYPOTHESE DU RENDEMENT CONSTANT

L'hypothèse du rendement constant suppose qu'une fraction constante de substrat limitant est convertie en biomasse au cours de la croissance. La traduction graphique de cette hypothèse dans le plan (Biomasse, substrat) est représentée ci-dessous : l'évolution de l'état du système se fait en suivant une droite.





Dans le cas particulier où la biomasse maximale est atteinte, le substrat est épuisé dans le milieu, et l'équation [I.7] se simplifie :

$$R\ S_o = B_m - B_o \qquad [I.8]$$

En combinant les deux dernières équations on obtient :

$$S = (B_m - B)/R \qquad [I.9]$$

ce qui par comparaison avec l'équation [I.6] nous permet d'identifier le paramètre Θ_4 à R, et de simplifier l'écriture du modèle :

$$\frac{dB}{dt} = \Theta_1\ B\ \frac{S}{\Theta_2 + S} \qquad [I.10]$$

La contrainte supplémentaire introduite ici est que la biomasse maximale est déterminée uniquement par la biomasse initiale et la concentration initiale en substrat limitant :

$$B_m = B_o + R\ S_o \qquad [I.11]$$

L'hypothèse du rendement constant est une condition sine qua non pour pouvoir identifier les paramètres du modèle de Monod lorsque l'on ne dispose que de données sur la biomasse : la valeur de la concentration en substrat à un instant donné se déduit des équations [I.8] et [I.9] :

$$S = \frac{S_o}{B_m - B_o}\ (B_m - B) \qquad [I.12]$$

Il est donc nécessaire de connaître la biomasse finale avant de pouvoir commencer à estimer les paramètres, ce qui limite l'aspect prédictif du modèle de Monod quand on ne dispose que du suivi de la biomasse.

L'hypothèse du rendement constant revient à supposer que la quantité d'aliment dépensée pour la maintenance de la population à un certain niveau est négligeable par rapport à celle qui intervient dans la croissance (TEISSIER 1936). Pour une population de bactéries telles que Escherichia coli, cette hypothèse est légitime (McGREW et MALLETTE 1962, MALLETTE 1963, WALLACE et HOLMS 1986). Dans des conditions où la maintenance n'est pas négligeable, la concentration en substrat limitant ne peut plus être déduite à partir de la valeur de la biomasse (cf. IV.4), et par voie de conséquence on ne peut plus légitimement estimer les paramètres du modèle de Monod à partir d'une courbe de croissance[3]. Ce point sera approfondi dans le dernier chapitre pour l'analyse des courbes de croissance en présence d'antibiotiques, c'est à dire dans des conditions où l'énergie de maintenance ne peut plus être négligée.

[3] Rappelons que ceci n'est vrai que dans les conditions expérimentales qui nous intéressent ici, i.e. la biomasse est mesurée et seul S_o est disponible. Ces conditions sont déjà plus exigeantes que celles qui existent en routine actuellement où S_o est inconnu (milieux de culture non définis).

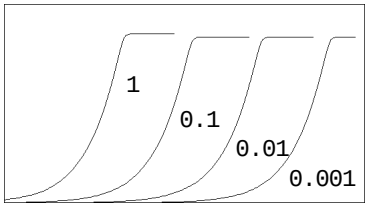
Fig. 1.4

SIMULATION DU MODELE DE MONOD

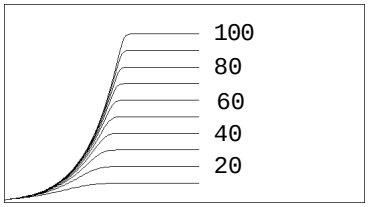
L'effet des paramètres et des conditions initiales dans le cas du modèle de croissance de MONOD est illustré ici en faisant varier un par un chacun de ces facteurs, les autres étant fixés à leur valeur par défaut. (Simulations effectuées avec le logiciel Dynamac, ROUSSEAU 1987).

Représentations directes des courbes de croissance

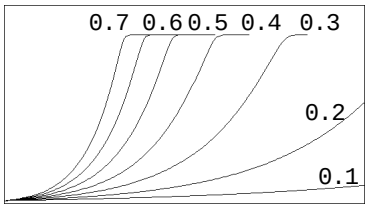
Abscisse : temps de 0 à 18h
Ordonnée : biomasse de 0 à 60 mg/l
Valeurs par défaut :
mmax = 0.7 1/h, Ks = 4 mg/l, R = 50 %, x0 = 1 mg/l, S0 = 100 mg/l



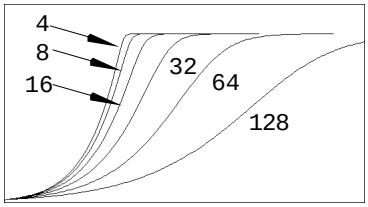
Effet de l'inoculum xo



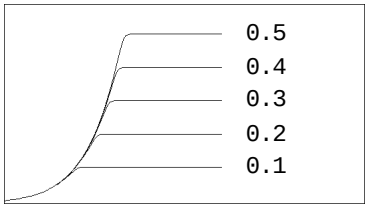
Effet de la concentration initiale en substrat So



Effet du paramètre mmax



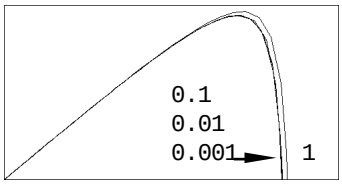
Effet du paramètre Ks



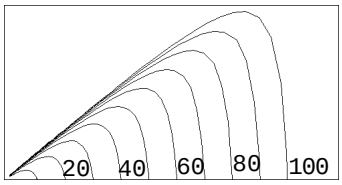
Effet du paramètre R

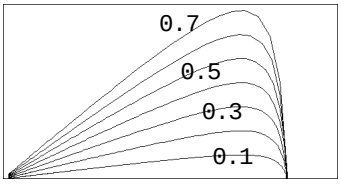
Représentations dans le plan de "phase"

Abscisse : biomasse de 0 à 60 mg/l
Ordonnée : dx/dt de 0 à 25 mh/(l.h)
Valeurs par défaut :
mmax = 0.7 1/h, Ks = 4 mg/l, R = 50 %, x0 = 1 mg/l, S0 = 100 mg/l

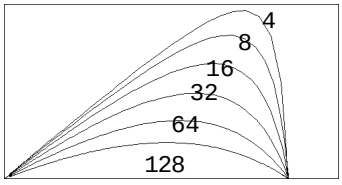


Effet de l'inoculum xo

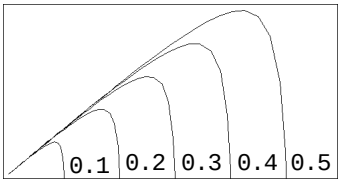




Effet du paramètre mmax



Effet du paramètre Ks



Effet du paramètre R

1.1.2.5 LE PARAMETRE Θ_1

Le taux de croissance[4] μ est défini de la façon suivante :

$$\mu = \frac{dB}{Bdt} \qquad [I.13]$$

Le modèle de Monod peut alors se mettre sous la forme :

$$\mu = \Theta_1 \frac{S}{\Theta_2 + S} \qquad [I.14]$$

Pour des valeurs de S très grandes par rapport à Θ_2, le taux de croissance tend vers une valeur égale à Θ_1, d'ou le vocable de taux de croissance maximum et sa notation : μ_{max}. Ce paramètre a les dimensions de l'inverse d'un temps (en général h^{-1} ou j^{-1}).

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{\Theta_2 + S} \qquad [I.15]$$

Le paramètre μ_{max} donne le taux de croissance de la population lorsque celle ci n'est pas limitée par la concentration en substrat : la biomasse croit alors de façon exponentielle, et ce d'autant plus vite que μ_{max} est grand (cf. Fig. 1.4).

Le temps de doublement de la biomasse, $t_{2/1}$, c'est à dire le temps mis par la biomasse pour voir sa concentration doubler vaut alors :

$$t_{2/1} = \frac{\ln 2}{\mu_{max}} \qquad [I.16].$$

Si notre population était constituée d'individus ayant rigoureusement le même temps de génération t_g, alors le temps de doublement serait égal au temps de génération. Mais on sait pertinemment qu'il existe une variabilité inter-individuelle pour t_g : elle est suffisante pour dé-synchroniser complètement une population en moins de trois générations (STANIER et al. 1986). Dès lors, notre temps de doublement n'est égal qu'à un temps de génération *moyen* des individus au sein de la population. Le sens du mot moyen ne doit pas être pris ici par référence à la définition de la moyenne arithmétique. En effet, si nous imaginons une population constituée de deux sorte d'individus, les "rapides" ayant un temps de génération très court d'une part et les "lents" ayant un temps de génération beaucoup plus long d'autre part, la croissance observée globalement sera surtout le fait des "rapides", faisant que le temps de doublement de la biomasse sera surtout représentatif du temps de génération de ces derniers. Le temps de génération déduit du temps de doublement est donc biaisé en faveur des individus les plus prolifiques.

Le problème de la relation entre le temps de génération et le temps de doublement a été étudié par PAINTER et MARR (1967, 1968). Ces auteurs ont

[4] Comme le souligne LIORET (1974) les expressions "taux de croissance relatif" et "taux de croissance spécifique" sont des pléonasmes.

développé un estimateur du temps de génération moyen, au sens de la moyenne arithmétique,

$$\overline{t_g} \approx t_{2/1} + \mu_{max} \frac{Var(t_g)}{2} \qquad [I.17],$$

qui en pratique n'est pas d'un très grand secours car la variance pour les temps de génération $Var(t_g)$ est difficile à mesurer. Cette relation permet cependant de voir comment le biais augmente avec le taux de croissance maximum et la variabilité inter-individuelle.

1.1.2.6 LE PARAMETRE Θ_2

Pour assurer l'homogénéité de l'équation [I.15] le paramètre Θ_2 doit avoir les mêmes dimensions que S. Le paramètre Θ_2 représente donc l'équivalent d'une concentration en substrat, égale en fait à la concentration telle que le taux de croissance soit inférieur de moitié à sa valeur maximale. Par analogie avec le modèle de Michaelis et Menten, ce paramètre est souvent appelé la constante de saturation et noté K_S.

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} \qquad [I.18]$$

Si la valeur du paramètre K_S est petite[5], alors la chute du taux de croissance sera brutale, donnant une courbe à point d'inflexion très haut. Si au contraire la valeur du paramètre K_S est grande, le point d'inflexion se rapprochera du centre de symétrie de la courbe, donnant une croissance de type logistique (cf. Fig. 1.4). Le paramètre K_S contrôle en fait l'arrondi final de la courbe de croissance.

Sous cette dernière forme [I.18], le modèle de Monod ressemble beaucoup au modèle de Michaelis et Menten. Cette ressemblance superficielle a sans doute contribué son succès, mais a également été à la source de confusions entre ces deux modèles, qui, ne serait-ce qu'au niveau des dimensions, ne présentent aucune similitude. Le modèle de Monod exprime la relation entre le taux de croissance (T^{-1}) et la concentration en substrat limitant tandis que le modèle de Michaelis et Menten exprime la relation entre la vitesse initiale d'une réaction enzymatique ($ML^{-3}T^{-1}$) et la concentration initiale en substrat de la réaction. Les dimensions des paramètres des deux modèles ne sont donc pas les mêmes :

[5] par rapport à B_o+RS_o, c'est à dire en pratique par rapport à S_o car l'inoculum est très souvent négligeable.

Comparaison de la dimension des paramètres des deux modèles			
MONOD (1941)		MICHAELIS et MENTEN (1913)	
μ_{max} :	T^{-1}	V_{max} :	$ML^{-3}T^{-1}$
K_s :	ML^{-3}	K_m :	ML^{-3}

Le danger de l'analogie entre les deux modèles a été vigoureusement dénoncé par HEALEY (1980) :

- Apparently by analogy with enzyme kinetics, the half-saturation value (K) for nutrient uptake or growth has frequently been overemphasized in discussion of competition in algae, and the role of maximum rates (Rm) has not been given sufficient emphasis. The ratio Rm/K, which is the slope of the Monod equation at lowest substrate concentration, offers a simple way of emphasizing both factors. Several examples from the literature are cited to show that this ratio better reflects rates at lowest concentrations, and competitive position in the process being considered, than do K values alone.

Les idées de Healey ont été popularisées par SOMMER (1986) :

- It is important to note that substrate affinity is not expressed by k_s, but rather by the initial slope of the saturation curve (μ/k_s)

Nous pouvons illustrer l'idée de donner une signification biologique au rapport μ_{max}/K_s par un exemple simple. Les valeurs suivantes des paramètres du modèle de Monod avec le glucose comme facteur limitant ont été déterminées par JANNASCH (1968) pour deux espèces :

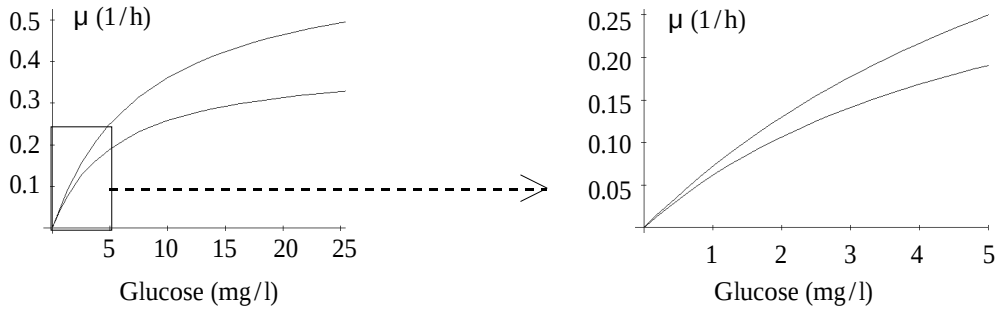
Espèce	K_s [mg glucose l^{-1}]	μ_{max} [h^{-1}]
Vibrio sp. (souche 204)	5.5	0.40
Escherichia coli (souche 415)	8.0	0.65

Dans le cas du modèle de Michaelis et Menten, la constante de saturation est égale à l'inverse d'une constante d'association de l'enzyme pour son substrat. La conception Michaelienne du modèle de Monod nous pousserait à interpréter l'inverse du paramètre K_s comme une constante d'affinité de la bactérie pour son substrat. Si nous calculons l'inverse du paramètre K_s pour les deux souches ci-dessus,

Vibrio sp. : $1/K_s = 0.18\ l.mg^{-1}$
Escherichia coli : $1/K_s = 0.125\ l.mg^{-1}$

nous conclurions alors à une meilleure affinité pour le glucose de Vibrio sp. par rapport à Escherichia coli. Si nous mettions ces deux souches dans une situation de compétition pour le glucose à une faible concentration, nous nous attendrions alors à ce que la souche présentant la plus forte affinité pour ce sucre soit avantagée.

Or, une simple représentation du taux de croissance en fonction de la concentration en glucose montre qu'il n'en est rien : le taux de croissance de Escherichia coli est toujours supérieur à celui de Vibrio sp. :



La transposition directe de la signification de la constante de saturation est donc particulièrement trompeuse. Le rapport de Healey μ_{max}/K_s, en fait égal à la pente du modèle de Monod à l'origine, caractérise bien mieux l'affinité des micro-organismes pour un substrat limitant.

Vibrio sp. : $H_e = \mu_{max}/K_s = 0.073\ l.mg^{-1}.h^{-1}$
Escherichia coli : $H_e = \mu_{max}/K_s = 0.081\ l.mg^{-1}.h^{-1}$

Le rapport de HEALEY (1980) est particulièrement pertinent ici car les valeurs du paramètre K_s sont de l'ordre du $mg.l^{-1}$, alors que les concentrations en glucose dans les écosystèmes sont le plus souvent bien plus faibles (e.g. de l'ordre du $\mu g.l^{-1}$ dans l'eau de mer, MOPPER 1980).

1.2 LA LENTE EMERGENCE D'UN PARADIGME

1.2.1 UN TRAVAIL NOVATEUR INCOMPRIS

La petite histoire raconte (JACOB 1987) que, lorsque le 17 décembre 1941 Jacques Monod soutint sa thèse, le président du jury, Mr Charles Perez, eut un mot historique : "ce travail n'intéresse pas la Sorbonne" ; et de fait Monod ne put jamais traverser la frontière symbolique du boulevard Raspail le séparant de l'Université. Le prix Nobel finit par couronner ses travaux en 1965. Comme le montrent de nombreux articles (CRICK 1976, STANIER 1977, FANTINI 1990) le retentissement de son œuvre demeure toujours considérable aujourd'hui.

Le modèle de croissance des micro-organismes que Monod a développé dans sa thèse est désigné aujourd'hui par le nom de son auteur, signe de son accession au statut de paradigme (KUHN 1983), notion assez floue comme le reconnaît KUHN (1990) lui-même, à laquelle on peut préférer celle de mème proposée par DAWKINS (1990). Nous avons cherché ici à préciser ici l'évolution du mème "modèle de croissance de Monod".

1.2.2 UNE IMPORTANCE ACTUELLE INDENIABLE

Le Science Citation Index (SCI) permet l'extraction des articles citant un des travaux de Monod ayant trait à la croissance (cf. Fig. 1.5). Ces travaux sont en général cités par les utilisateurs du modèle de Monod. Les références issues du SCI ont été complétées par l'interrogation de bases de données bibliographiques dont l'apport quantitatif reste cependant mineur (BIOSIS : 54 articles, MEDLINE : 15 articles), ainsi que par l'ajout ponctuel des articles rencontrés chemin faisant.

De 1945 à 1989, plus de 1800 articles font référence aux travaux de Monod relatifs à la croissance. Ce nombre sous estime certainement l'influence du modèle de Monod parce qu'il est fréquemment utilisé sans référence explicite. Il nous faut donner quelques éléments de comparaison (in GARFIELD 1990) pour situer l'importance de ce modèle dans la littérature scientifique. L'article sur la nature des transitions allostériques (MONOD et al. 1965) a été cité 3525 fois et occupe le 87ième rang mondial. Le seuil pour appartenir au club très fermé des 100 articles les plus cités au monde est de 3200 citations. Le record est détenu par un article technique sur le dosage des protéines (LOWRY et al. 1951) avec un total de 187652 citations. D'un point de vue quantitatif, l'importance du modèle de Monod est donc en deça de l'article sur les transitions allostériques (MONOD et al. 1965), mais comme nous le verrons plus loin l'analyse de la dynamique du phénomène nous conduira à nuancer ce jugement.

Fig. 1.5

COLLECTE ET MANIPULATION DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Les références bibliographiques des articles relatifs au modèle de croissance de Monod ont été rassemblées selon le schéma suivant.

Travaux cités par les utilisateurs du modèle de MONOD :

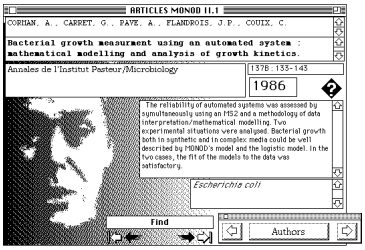
MONOD, J. (1941) Recherches sur la croissance des cultures bactériennes, Thèse de docteur ès sciences naturelles, PARIS
MONOD, J. (1942) Recherches sur la croissance des cultures bactériennes, Herman & Cie éd., PARIS
MONOD, J. (1949) The growth of bacterial cultures. Ann. Rev. Microbiol., 3 : 371-394
MONOD, J. (1950) La technique de la culture continue : théorie et applications. Ann. Inst. Pasteur, 79 : 390-410

Sources des références.

1) Extraction du Science Citation Index des références abrégées des articles citant les travaux de Monod indiquées ci-dessus. La période couverte par le Science Citation Index va de 1945 à 1989.
2) Consultation de deux bases de données bibliographiques, MEDLINE et BIOSIS. Leur apport, d'un point de vue quantitatif, est mineur (moins de 5% des références).
3) Autres sources (moins de 1% des références).

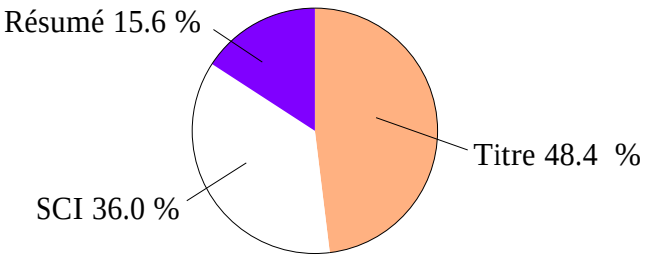
Supplémentation des références (recherche du titre et du résumé)

1) Consultation des Biological Abstratcts
2) Consultations des grandes collections
3) Commande des articles
4) Saisie des références pour constituer une base bibliographique spécialisée.



1855 fiches bibliographiques.

La gestion des fiches est assurée par le logiciel Hypercard II disponible sur Macintosh.



Taux de recouvrement des références.

SCI : les huit premières lettres du nom du premier auteur avec les initiales des prénoms, année de publication, code SCI abrégé de la revue, numéro de volume, première page.
Titre : auteurs, année, nom intégral de la revue, volume, première et dernière page, titre de l'article.
Résumé : Titre + résumé de l'article.

1.2.3 DES TRAVAUX PEU CONSULTES

L'utilisation du nombre de citations d'un article pour quantifier l'importance de celui-ci doit être pris avec circonspection. Ce n'est pas parce qu'un article est très cité qu'il est nécessairement lu. Ce phénomène est illustré ici de façon flagrante par le titre de la thèse de Monod tel qu'il est transcrit dans la littérature. Ce titre est le siège de nombreuses altérations qui se propagent avec les citations de seconde main (cf. Fig. 1.6). La fréquence des mutations dans le titre est importante en raison de la faible pression de sélection exercée par la communauté scientifique internationale à l'encontre des phrases en français : en tant que vecteur des échanges scientifiques le français est une langue désuette, et les erreurs typographiques ne trouvent plus personne pour les corriger. La difficulté à se procurer les travaux originaux (la dernière édition de la thèse de Monod date de 1958) favorise le recours aux citations de seconde main, et ainsi la propagation des titres mutants.

Il est clair qu'actuellement les travaux de Monod relatifs à la croissance sont souvent cités sans avoir été lus. Les articles concernés font appel aux travaux de Monod en tant que jalon historique (citation d'un auteur ancien constituant la toile de fond d'un travail) ou en tant qu'argument d'autorité (citation d'un auteur renommé afin de mieux convaincre de la solidité des prémisses de l'article). Cette absence de retour aux textes originaux entretient la confusion entre le modèle de Monod et celui de Michaelis et Menten.

1.2.4 UNE CROISSANCE LENTE MAIS CONSTANTE

L'évolution au cours du temps du nombre de citations par an des travaux de Monod relatifs à la croissance (*cf.* Fig. 1.7) met en évidence un accroissement de l'impact du modèle de Monod qui de moins de 10 citations par an avant 1950 augmente régulièrement dans les 30 années qui suivent pour se stabiliser aux alentours de 70 citations par an actuellement. La tendance générale est bien rendue par un modèle logistique,

$$x(t) = \frac{x_m\, x_o\, e^{\mu(t-t_o)}}{x_m - x_o + x_o e^{\mu(t-t_o)}} \qquad \text{[I.19]},$$

où x représente le nombre de citations par an, t l'année, t_o la première année (1946), x_o la valeur de x pour l'année t_o, x_m la valeur finale maximale de x, et μ le taux de croissance de x en l'absence de freinage. La valeur optimale des paramètres, c'est à dire celle conduisant au meilleur ajustement au sens des moindres carrés, ainsi que les intervalles de confiance (cf. III.32), sont résumés le tableau ci-dessous :

Fig. 1.6

VARIATIONS AUTOUR D'UN TITRE

Quelques exemples de mutations constatées au niveau du titre de la thèse de Monod sont représentées dans l'alignement ci-dessous. La conservation d'un caractère est indiquée par un point, sa délétion par un tiret, et une mutation ponctuelle par le caractère qui lui est substitué.

```
MONOD 41                    Recherches sur la croissance des cultures bactériennes

CAPERON 67                  ---------------L....................................
TANNER 70                   ---------------L..C.......................B...e.......
KOCH 72                     ---------------L..C..............C.......................
CROWLEY 75                  ---------------L..C..............C........B..........
MERCER 82                   ---------------L..C..............C........B...e.......
JONES 73                    ---------------L..C..............C........B...e.......
WILLIAMS 67                 ---------------L..C..............C........B...e.......

KOLKER 87                   ..............................-------------....e.......
VONMEYE 71                  ..............................-------------....e.......
BELL 82                     ..............................-------------....e.......
PIRT 67                     ..............................-------------B..........-
PIRT 65                     ..............................-------------B..........
JÖBSES 85                   ..................C...........-------------B...e.......

ERNI 89                     ..............................................e.......
SCHUZE 64                   ..............................................e.......
BUTLER 86                   ..............................................e.......
BUTLER 83                   ..............................................e.......
DAWES 64                    ..............................................e.......
SLEE 80                     ..............................................e.......
ECKER 61                    ..............................................e.......
FIDDY 75                    ..............................................e.......
MARR 63                     ..............................................e.......
LAW 86                      ..............................................e.......
MEYER 75                    ..............................................e.......
GOMMERS 88                  ..............................................e.......
McGREW 62                   ..............................................e.......
SCHULZ 69                   ..............................................e.......
HEALEY 80                   ..............................................e.......
EDWARDS 68                  ..............................................e.......
MIZRAJI 82                  ..............................................e.......

LAMANA 63                   ..................C..............C........B..........
BALTZIS 84                  ..................C..............C........B..........
VAN UDEN 69                 ..................C..............C........B..........
VAN UDEN 84                 ..................C..............C........B..........
HOLMBERG 82                 ..................C..............C........B..........
AGREN 88                    ..................C..............C........B..........
KREIKEN 86                  ..................C..............C........B..........
LEVENSP 80                  ..................C..............C........B..........
HELLING 87                  ..................C..............C........B..........
CONTOIS 59                  ..................C..............C........B..........
JASON 83                    ..................C..............C........B..........
CURDS 68                    ..................C..............C........B..........
PANIKOV 78                  ..................C..............C........B..........
DROOP 83                    ..................C..............C........B..........
KOCH 68                     ..................C..............C........B..........
DEAN 67                     ..................C..............C........B..........
FREDRICK 77                 ..................C..............C........B..........
KNOWLES 65                  ..................C..............C........B..........
BUSH 76                     ..................C..............C........B..........
JANNASCH 68                 ..................C..............C........B..........

MORIN 42                    ...................................C........B..........
SHEHATA 71                  ..................C...........................e.......
PERRAM 73                   ..................C..............C............e.......

CLEGG 71                    ..................C..............C........B...e.......
HEGAWALD 78                 ..................C..............C...... .B...e.......
KEENER 85                   ..................C..............C........B...e.......
WANNER 90                   ..................C..............C........B...e.......
STOUTHAM 73                 ..................C..............C........B...e.......
DAVIDSON 86                 ..................C..............C........B...e.......
MALETTE 63                  ..................C..............C........B...e.......
FUJIMOTO 63                 ..................C..............C........B...e.......
WALLACE 86                  ..................C..............C........B...e.......
CHU 87                      ..................C..............C........B...e.......
ESENER 83                   ..................C..............C........B...e.......
BUTLER 87                   ..................C..............C........B...e.......
FRALEIGH 86                 ..................C..............C........B...e.......
BLANCH 81                   ..................C..............C........B...e.......
PAINTER 68                  ..................C..............C........B...e.......
KOMPALA 85                  ..................C..............C........B...e.......
FUJIMOT 63                  ..................C..............C........B...e.......

STIEBITZ 87                 ..................C..............C........B...e......-
THOMAS 70                   ..................C..............C........B...e......-
FINENKO 74                  ..............................................e......-
LAUDELOUT74                 ........-.....................................
KOCH 75                     ...............................-C............e..é....

ANDREWS 68                  .......-.....................................
HERBERT 56                  .......-.....................................
GATES 68                    .......-...S......C..............C........B...e.......
MORGAN 75                   ......s-..........C..............C........B...e.......
BRAUN 70                    ..s-..............C..............C........B..........
WÖRZ 83                     ..s-..............C..............C........B...e.......
BOYLE 74                    ..sea.............C..............C........B...e.......

LAW 77                      ...........................................e..é....
OWENS 87                    .é................C..............C........B..........
TEMPEST 84                  .é................C..............C........B..........
MATELES 65                  .é................C..............C........B...e.......

BERMUDEZ 89                 ..................C..............C........B...e..a....
WILLIAMS 87                 ................e.C.......................B...e.......
BRANNAN 86                  ...............L..C..............C........B...e.......
VAVILIN 80                  .........r........E..............C........B...e...u..rs
```

Délétion majeure de la séquence en amont : "Recherches sur"

Délétion majeure de la séquence interne : "des cultures"

Perte de l'accentuation de é de "bactériennes". (mutation "muette" liée au changement de contexte typographique)

Passage en majuscule de la première lettre des mots clefs du titre (mutation "muette" liée au changement de contexte des conventions d'écriture des titres)

Recombinants des deux catégories précédentes

Combinaison d'une désaccentuation de "bactériennes" avec un passage en majuscule de la première lettre des mots clefs

Délétions ponctuelles conduisant à la perte de la marque du pluriel ("s").

Anglicisation du mot "Recherches" (e.g. Recherces, Reserches, Recherses)

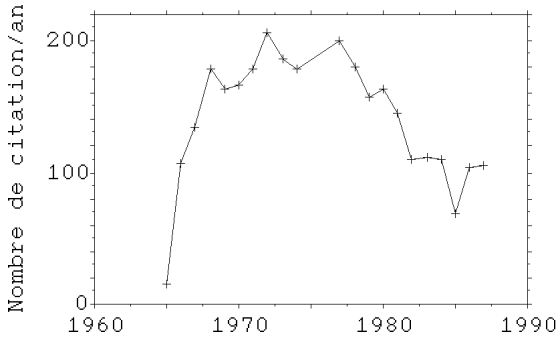
Migration de l'accent de "bactériennes" sur un autre caractère

Mutations diverses

Paramètre	Optimum	Borne inférieure	Borne supérieure
x_o	8.0	4	13
x_m	69.6	62	82
μ	0.127	0.092	0.183

L'extrapolation du modèle logistique prédit pour l'an 2000 un total de 2500 citations pour le modèle de Monod, ce qui est loin d'être négligeable. Mais le caractère le plus frappant est sans doute l'extrême lenteur de cette montée en puissance : le temps nécessaire pour doubler le nombre annuel de citation en l'absence de freinage (ln 2/μ) est de 5.5 [3.8-7.5] ans. Personne n'aurait pu prévoir à partir de données bibliométriques, même dix ans après sa publication, le succès de ce modèle. L'analyse des écarts par rapport à la tendance générale ne fait pas ressortir de structure particulière, alors que l'on aurait pu attendre une perturbation due à l'attribution du prix Nobel en 1965.

Il faut souligner que cette dynamique est atypique. La courbe de citation d'un article scientifique présente en général un maximum quelques années après sa publication, cette durée étant variable selon les secteurs de recherche. Par exemple, dans le cas de l'article sur la nature des transitions allostériques (MONOD et al. 1965) on observe une augmentation fulgurante avec plus de 100 citations l'année suivant la publication, puis une stabilisation à un niveau très élevé pendant environ 10 ans, et enfin une phase de déclin :



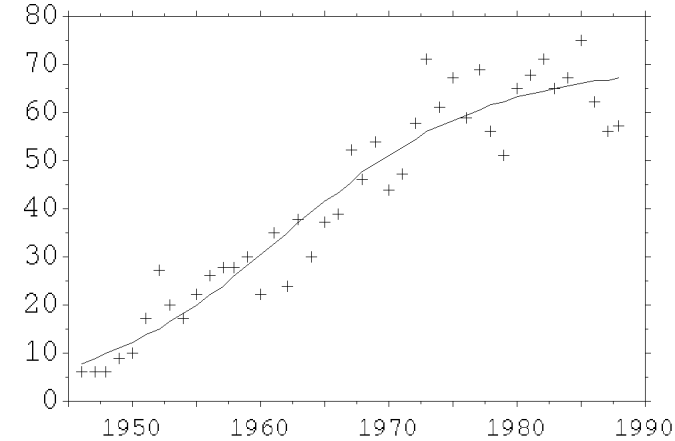
Si le nom de Monod doit entrer dans l'histoire, ce ne sera sans doute pas en tant que prix Nobel ou en tant que figure emblématique de la biologie moléculaire, mais simplement parce qu'il reste attaché à un modèle de croissance. La pérennité du nom des auteurs des modèles est bien connue : MALTHUS (1872) reste associé à l'exponentielle, GOMPERTZ (1825) a proposé un modèle de croissance qui porte toujours son nom, VERHULST (1845, 1847) est encore cité pour ses travaux sur la logistique, les noms de MICHAELIS et MENTEN (1913) sont indissociables d'un modèle de cinétique enzymatique, et plus près de nous TEISSIER (1936) et MONOD (1941) sont en passe d'intégrer le panthéon des "modélisables".

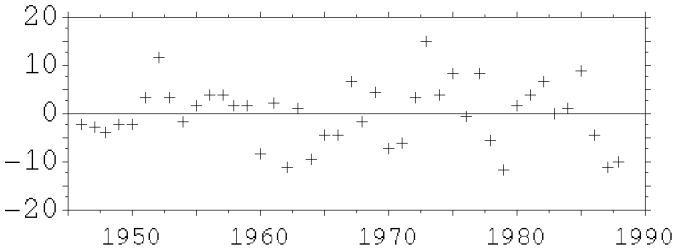
Fig. 1.7

CROISSANCE DU MODELE DE MONOD

Augmentation du nombre de citations des travaux de Monod liés à la modélisation de la croissance (les données numériques correspondant dont données dans l'annexe 6.5). La tendance générale est bien rendue par un modèle logistique. Les résidus semblent être distribués de façon aléatoire.

Nombre de citations par an

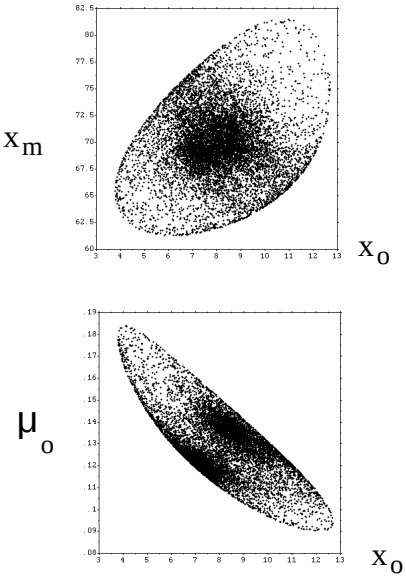


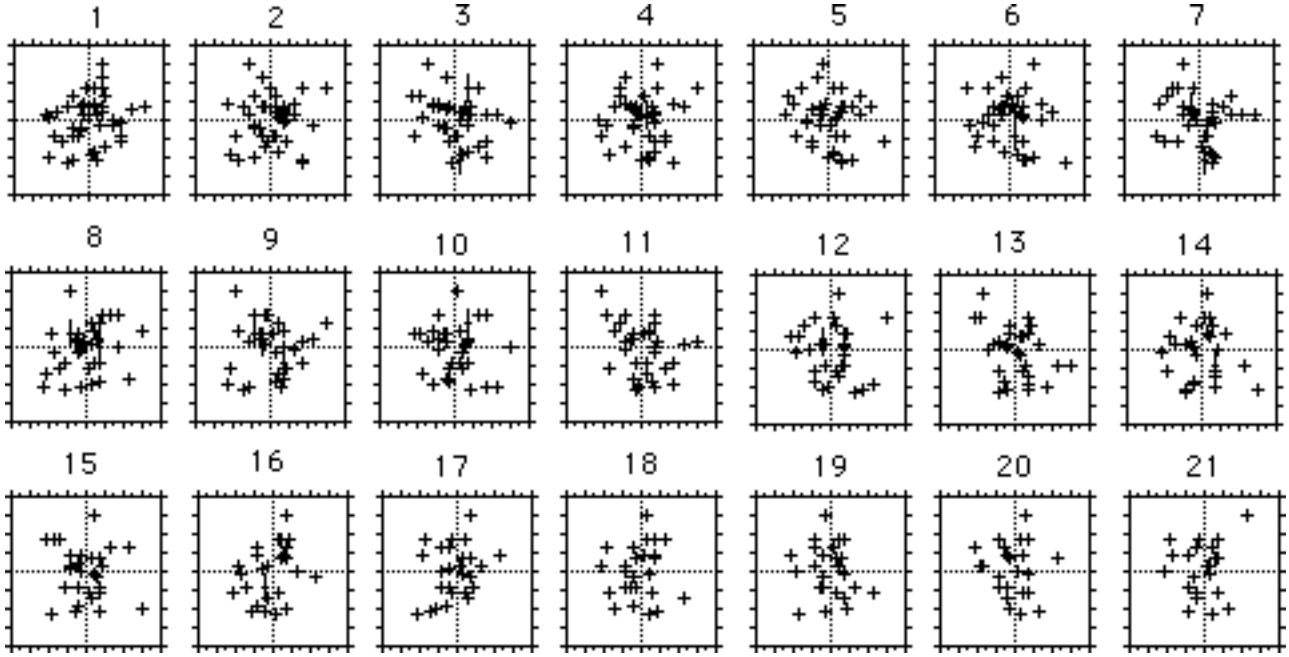


Résidus R(t)

Année

Régions de confiance avec un risque de première espèce de 5% pour la valeur des paramètres du modèle logistique





R(t+n) en fonction de R(t) pour n variant de 1 à 21.

La conséquence malheureuse de cette immortalisation du nom des auteurs de modèles est que de nombreux scientifiques tentent ainsi d'entrer dans la légende. Ceci conduit à une prolifération impressionnante de modèles (revues dans BLANCH 1981, DOCHAIN 1986, COMBY 1989). Dans le domaine, pourtant assez pointu, des avatars du modèle de Monod, si l'on excepte CONTOIS (1959) et ANDREWS (1968) qui ont connu un succès certain, il existe de nombreuses généralisations gratuites, dans le sens où elles ne s'appuient pas sur un corpus expérimental solide, et sans lendemain car leur impact sur la communauté scientifique est négligeable.

Exemples de généralisations gratuites et sans lendemain du modèle de Monod

Référence	Modèle	Nombre de points expérimentaux	Nombre de citations de 1986 à 1989
KONAK (1974)	$\mu = \mu_{max} \dfrac{S}{\dfrac{1}{k\mu_{max}} + S}$	néant	néant
TSAO et HANSON (1975)	$\mu = (k_o + \dfrac{k_1 S_1}{K_1 + S_1} + \dfrac{k_2 S_2}{K_2 + S_2})(\dfrac{G}{K_g + G})$	4 x 16 points	5
KARGI (1977)	$\mu = \mu_{max} \dfrac{S^a}{K_s + S^a}$	néant	néant
BADER (1978)	$\mu = \mu_{max} \dfrac{S_1}{K_1 + S_1} \dfrac{S_2}{K_2 + S_2}$	néant	9
PANIKOV et PIRT (1978)	$\mu = \mu_{max} \dfrac{S^n}{S^n + LK_{sh}}$	8 points et 4 points	3

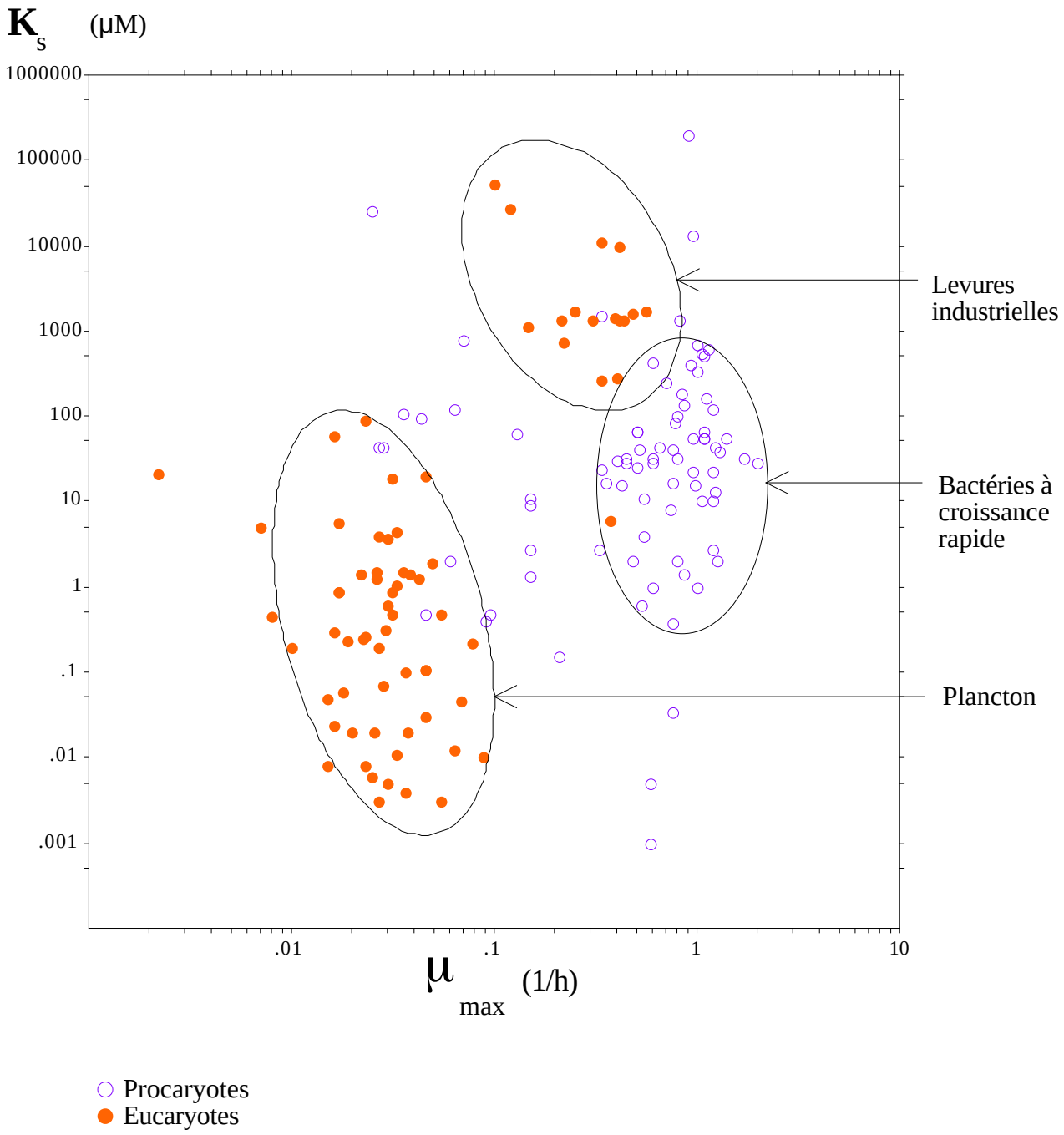
Cette multiplication ad nauseam des modèles de croissance n'est pas un phénomène nouveau puisque Monod y faisait déjà allusion dans sa thèse[6]. L'exemple le plus caricatural est celui de la "redécouverte" pure et simple du modèle de Monod (QIWU et LAWSON 1982, QIWU et al. 1984) publiée dans des revues pourtant réputées pour leur sérieux.

[6] "On sait, en effet, que le problème qui nous préoccupe a déjà tenté de nombreux auteurs, et qu'une foule de théories, dont les points de départ, sinon l'aboutissement, sont fort différents, ont été proposées pour rendre compte de la croissance des populations comme de celles des organismes" MONOD (1941).

Fig. 1.8

VALEURS PUBLIEES DES PARAMETRES DU MODELE DE MONOD

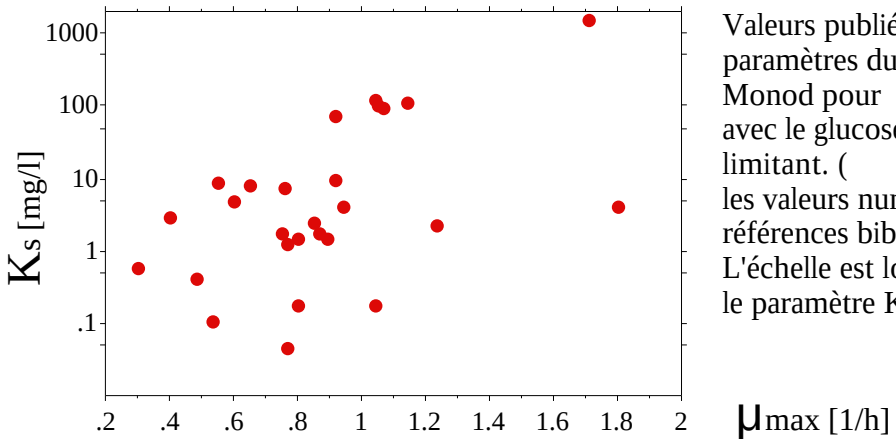
Ce graphique représente les valeurs qui ont été publiées pour les paramètres du modèle de Monod, toutes espèces et tous substrats limitants confondus (annexe 6.10). Les échelles pour les deux axes sont logarithmiques pour pouvoir représenter toutes les valeurs.



1.3 L'UTILISATION DU MODELE DE MONOD

1.3.1 UN CARACTERE SEMIQUANTITATIF PRONONCE

Une conséquence intéressante du succès du modèle de Monod est que ses paramètres ont été estimés de façon indépendante par de nombreux auteurs. Le cas le mieux documenté est celui de Escherichia coli avec le glucose comme facteur limitant :



Valeurs publiées des paramètres du modèle de Monod pour *Escherichia coli* avec le glucose comme facteur limitant. (Annexe 6.11 pour les valeurs numériques et les références bibliographiques). L'échelle est logarithmique pour le paramètre Ks.

Les valeurs publiées vont de 0.31 à 1.8 h^{-1} pour le paramètre μ_{max} et de 0.0465 à 1500 $mg.l^{-1}$ pour le paramètre K_S ; les paramètres sont donc loin de représenter des constantes universelles. Les sources de variabilité sont d'une part le choix de la souche étudiée (e.g. la variabilité intra-spécifique observée par ROCHET et FLANDROIS 1989) et d'autre part les conditions de culture (e.g. variations entre les cultures en cuvée et en continu dans SENN 1989).

Les estimations des paramètres μ_{max} et K_S que nous avons collectées dans la littérature sont données dans l'annexe 6.10. L'examen de la distribution des valeurs (cf. Fig. 1.8) montre la grande variabilité rencontrée, avec une distribution sur 9 ordres de grandeurs pour K_S et sur 3 ordres de grandeurs pour μ_{max}. Une typologie rapide permet d'esquisser trois grands groupes. i) Les micro-organismes isolés du plancton (Volvox aureus, Brachionus calyciflorus, Diatoma elongatum…) qui présentent en général un faible taux de croissance et des faibles K_S pour les substrat limitants étudiés (phosphate, nitrate et silicium principalement). ii) Des levures a caractère industriel (Saccharomyces cerevisiae, Candida utilis, Debaromyces subglobosus…) qui ont un fort taux de croissance mais des K_S assez élevés. iii) Des bactéries à croissance rapide (Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae…) avec des K_S intermédiaires. Il faut se méfier de toute interprétation en termes biologique de ces groupes car l'échantillonnage est loin d'être aléatoire et les substrats limitants différents : nous retrouvons ici plutôt des groupes d'utilisateurs du modèle de Monod qui travaillent sur une thématique et un matériel biologique commun.

Le modèle de Monod illustre bien cet aspect le plus souvent semi-quantitatif des résultats disponibles en biologie, résultats qui font pâle figure en regard de ce que l'on

rencontre dans de nombreux domaines de la physique[7]. Néanmoins, comme le souligne SEGEL (1984), ce n'est pas parce que les théories ont peu de chance d'être confrontées à des données numériques précises dans le domaine biologique qu'il faut négliger tout effort de conceptualisation. Les bonnes théories peuvent souvent être réfutées par des données semi-quantitatives.

1.3.2 DES APPLICATIONS VARIEES EN MICROBIOLOGIE

L'examen (cf. tableau ci-dessous) des principaux journaux dans lesquels ont été publiés les articles utilisant le modèle de Monod montre, sans surprise, une majorité de revues de microbiologie, avec les grandes revues généralistes (*Journal of General Microbiology*, *Journal of Bacteriology*, *Archives of Microbiology*, *Annales de l'Institut Pasteur*, *Canadian Journal of Microbiology*) et celles à caractère plus appliqué dans le domaine des bioprocédés (*Biotechnology & Bioengineering*, *Biochimica Biophysica Acta*, *Journal of Fermentation Technology*) et de l'épuration des eaux usées (*Journal Water Pollution Control Federation*, *Applied and Environmental Microbiology*, *Water Research*). Le score élevé du *Journal of Theoretical Biology* peut surprendre, il s'explique principalement par l'extension du modèle de Monod à la modélisation de phénomènes plus complexes, avec en particulier les interactions prédateurs/proies et les compétitions pour les ressources. La limnologie et l'océanographie sont également bien représentées par de nombreuses de revues qui, faute de place, n'apparaissent pas dans ce tableau.

Principales revues publiant des articles utilisant le modèle de Monod

Revue	Nombre d'articles
Biotechnology & Bioengineering	178
Journal of General Microbiology	81
Journal of Bacteriology	70
Journal Water Pollution Control Federation	67
Applied and Environmental Microbiology	67
Water Research	60
Archives of Microbiology	41
Annales de l'Institut Pasteur	37
Biochimica Biophysica Acta	35
Journal of Theoretical Biology	28
Journal of Fermentation Technology	26
Canadian Journal of Microbiology	26

Cette typologie sommaire des grands secteurs d'application du modèle de Monod est assez bien corroborée par l'intitulé des laboratoires dont sont originaires les auteurs les plus prolixes :

[7] Citons le cas de la constante du moment magnétique de l'électron dont la valeur prédite par la théorie de l'électrodynamique quantique est de 1.00115965221 contre 1.00115965246 pour la valeur observée (FEYNMAN, 1987).

Auteurs ayant publié le plus d'articles citant les travaux de Monod relatifs à la croissance

Auteurs	Nombre d'articles	Intitulé du laboratoire
DROOP, M.R.	10	Scottisch Marine Biological Association
DAWSON, P.S.S.	9	Plant Biotechnology Institute
BUTTON, D.K.	8	Institute of Marine Science
GAUDY,A.F.	8	Bioengineering Laboratories
KOCH, A.L.	8	Program in Microbiology
JANNASCH, H.W.	7	Institut für Mikrobiologie
PIRT, S.J.	7	Microbiology Department
FREDRICKSON, A.G.	6	Dep. of Chemical Engineering and Material Science
TEMPEST, D.W.	6	Laboratory of Microbiology
SOMMER, U.	6	Max Planck Institute of Limnology
VAN UDEN, N.	6	Laboratory of Microbiology

1.4 LE SENS PERDU

1.4.1 LA CONFUSION AVEC LE MODELE DE MICHAELIS-MENTEN

Lorsque l'on examine la façon dont les auteurs introduisent le modèle de Monod dans leurs articles, la présence du modèle de Michaelis et Menten se fait lourdement sentir. Les exemples suivants permettent de prendre toute la mesure des collisions, plus ou moins prononcées, que l'on peut constater entre ces deux modèles :

- The Monod model is the most commonly used of the three models. It is equivalent to the Michaelis-Menten enzyme kinetics model which is covered in many basic and chemistry texts. (BADER 1978).
- Monod kinetics can be expressed as

  $$\text{Substrate(A)} \xrightarrow{\text{Cell C}} \text{more Cells (C) + Product (R)}$$

  $$rc = k \frac{Ca\ Cc}{Ca + Cm} \left(\frac{\text{cell mass produced}}{\text{unit volume x time}}\right)$$

  where rc is the growth rate of cells, k is the reaction rate constant, Ca is the substrate concentration, Cc is the cell concentration, and Cm is the Monod constant. (HAN et LEVENSPIEL 1988)
- The assumption of the Monod model may be written as :

  $$B + aS \rightleftarrows B' \rightarrow 2B \text{ (JOST et al. 1973)}$$
- In fact, the derivation of the Monod equation from Michaelis-Menten kinetics has been achieved by Kessick by assuming that the concentration of the other metabolites are kept at steady-state level within the cell. (KARGI 1977)
- the argument above required that the Monod constant, K, be equivalent to the Michaelis-Menten constant, K_m. (KESSICK 1974)
- μ_m the maximum specific growth rate and K may be termed the substrate concentration when $\mu=\mu_m/2$ or simply the Michaelis-Menten constant. (KONAK 1974)
- in which μ_m is the theoretical maximum specific growth rate and K_s, known as the 'saturation constant', is an inverse measure of the organisms's affinity for the substrate. (PIRT 1973)
- If the equation is derived by application of the Michaelis-Menten theory of enzyme kinetics, we first obtain :

  $$Q = Qm\ S/(S + Ks)$$

  where Q is the specific rate of uptake of growth-limiting substrate. Since Q = m/Y and Qm = Ym/Y, if Y is constant, we derive equation (1) (PANIKOV et PIRT 1978)
- the MICHAELIS coefficient K_s, that is the substrate concentration at which the growth rate is equal to half its maximum. (CURDS et COCKBURN 1968)
- The Monod equation is analogous to the Michaelis-Menten equation, which expresses the relationship between substrate concentration and rate in a single enzymatic reaction. (DABES et al. 1973)
- It must be pointed out that Monod's model is based upon the assumption that the specific growth rate is merely a function of s as seen in enzymatic reaction in vitro. (FUJIMOTO 1963)
- μ_m the maximum velocity, K_s the so-called Michaelis-Menten constant. (HOLMBERG 1982)
- km is growth-rate constant [...] and X the saturation (or Michaelis) constant for the substrate. (KNOWLES et al. 1965)
- Monod a donné une expression générale de μ en fonction de S, expression similaire à l'équation de Michaelis-Menten utilisée pour décrire les réactions enzymatiques. (MAYER et al. 1982)

- K_{max} is the maximal value of specific growth rate at large values of C, K_s is a parameter analogous to the Michaelis-Menten constant, which is called the substrate constant. (SHEHATA et MARR 1971)
- Ce phénomène a été étudié par Monod qui a proposé d'exprimer μ en fonction de s par la relation empirique suivante, par analogie, de l'équation établie par Michaelis pour les enzymes. (LEVEAU et BOUIX 1988)
- Monod's equation is expressed as
  $$\left(\text{substrate}_A\right) + \text{cells} \rightarrow \left(\text{product}_R\right) + \left(\text{more cells}_c\right) \text{ and}$$
  $r_c = kC_AC_C/(C_A + C_M)$
  where r_c is the rate of production of cells; C_A is the substrate concentration; C_C is the cell concentration; C_M is the Monod constant, the substrate concentration where the rate is one-half the maximum. (LEVENSPIEL 1980)
- justification [du modèle de Monod] : équation de Michaelis-Menten (MILLIER 1982)
- Die Affinitätskonstante Ks ist sinnvoll für den Vergleich verschiedener Substrate und kann als apparente Affinitätskonstant betrachtet werden. Sie ist zweifellos mit der Aktivität des für den Abbau des betreffenden Substrats verantwortlichen Enzymsystems verbunden. (SENN 1989)
- The maximum growth rate, μ_m, and the saturation coefficient, k, have the same significance as in the Michaelis-Menten equation (DRAKE et TSUCHIYA 1977)
- Where R is a substance that promotes the growth and division of a cell and K is a dissociation constant for the complex of R and its receptor. (CARLSON 1977)
- From this it follows that the Monod equation may apply only in cases where the transfert of the limiting nutrient follows unidirectional Michaelis-Menten kinetics (VAN UDEN 1969)
- where α_{max} is the theoretical maximum specific growth rate of the organism and K_s, the saturation constant, is a measure of the organism's affinity for the substrate (FIDDY et TRINCI 1975)
- A mechanistic description of the growth and nutrient removal kinetics of micro-organisms has been provided by Monod as an application of the Michaelis-Menten expression. (BRAUN et BERTHOUEX 1970)
- The specific growth rate m(t) described by (6) is the so-called Michaelis-Menten expression, which originates from enzyme kinetic relationships and which was first applied to microbial cultures by Monod. (HOLMBERG et RANTA 1982)
- Monod's hypothesis that the specific cellular growth rates could be described by an equation having the same functional form as the Michaelis-Menten equation of enzyme kinetics was based, in part, on the premise that one particular enzymatic reaction (master reaction) could control the particular substrates' rate. (WEBSTER 1981)
- and K_s is analogous to K_m and reflect the uptake and utilization efficiency for the growth-rate-limiting nutrient (GILBERT 1991)

En opposition avec ce qui précède, rappelons que MONOD (1941) a introduit son modèle en tant que modèle phénoménologique, c'est à dire sans signification biologique.

- La constante μ_0 exprime le taux de croissance maximum. [...] Enfin, la constante C_1 représente la concentration d'aliment limitant pour laquelle le taux de croissance est inférieur de moitié au taux maximum. (MONOD 1941)
- R_k is the rate limit for increasing concentrations of C. C_1 is the concentration of nutrient at which the rate is half the maximum (MONOD 1949)

Il le présente comme une approximation du modèle de TEISSIER (1936) qui présente l'avantage d'être plus facile à manier. Point significatif, il n'est fait nulle part mention du modèle de Michaelis et Menten. Le glissement sémantique observé (cf.

exemples ci-dessus) peut être expliqué par la notion rémanente, même s'il elle n'est pas toujours clairement exprimée, de réaction maîtresse (BLACKMAN 1905).

1.4.2 LE PRINCIPE DE LA REACTION MAITRESSE

Le sentiment général est que la cinétique de la croissance doit pouvoir s'expliquer par une réaction maîtresse de type enzymatique imposant sa caractéristique à l'ensemble du phénomène. Or, cette notion de réaction maîtresse était bien présente à l'esprit de Monod, et il la considérait comme extrêmement suspecte,

- Il faut se garder cependant d'en conclure que le taux de croissance est déterminé par la vitesse d'une réaction unique. (MONOD 1941)
- Elle indique plutôt, semble-t-il, que l'on ne saurait accorder beaucoup de confiance à la notion d'une 'réaction maîtresse' imposant son rythme et sa caractéristique à un processus aussi complexe que celui de la croissance bactérienne. (MONOD 1941)

suivant en cela le point de vue de TEISSIER,

- ...la critique la plus grave que nous puissions adresser aux théories chimiques de la croissance est d'ordre biologique. Toutes parlent de 'substance vivante' comme si un être vivant était une masse amorphe et homogène ; toutes raisonnent comme si cette "substance vivante" était un composé chimique de constitution très simple. Comment croire que la synthèse du protoplasme de l'être le plus humble puisse être entièrement gouverné par une réaction monomoléculaire ? (TEISSIER 1936)

Et encore plus récemment, le concept de la réaction maîtresse a été mis en doute par SENEZ (1962) et MARR (1991). Pour asseoir sa position, MONOD (1941) s'appuie sur le travail de BURTON (1936) qui, selon lui, a montré que : "pour qu'une réaction puisse imposer sa vitesse à une chaîne même très courte, il faut qu'elle soit considérablement plus lente que toutes les autres réactions de la chaîne, et cela d'autant plus que la chaîne est plus longue. La vitesse des transformations le long d'une chaîne de réactions dépend à la fois de la vitesse de toutes les réactions de la chaîne, et de leurs constantes d'équilibre." Notons que tout le monde n'en est pas convaincu, en particulier ceux qui, comme DABES *et al.* (1973), ont besoin d'une étape imposant sa caractéristique pour faire la jonction entre les deux modèles. L'analogie entre ces deux modèles n'a pas échappé à Monod, mais il a toujours émis des réserves quant à la signification d'une telle similitude, s'entourant d'un luxe de précautions pour discuter de la signification des paramètres :

- The value of C1 should similarly be expected to bear some more or less distant relation to the apparent dissociation constant of the enzyme involved in the first step of the breakdown of a given compond. (MONOD 1949, souligné par nous).

L'amalgame entre le modèle de Monod et celui de Michaelis et Menten est exacerbé par une confusion au niveau même du concept de réaction maîtresse (PERRET 1960). Dans sa formulation originelle, selon BLACKMAN (1905), la vitesse d'un processus conditionné par plusieurs réactions distinctes est limité et non déterminé par la réaction la plus lente :

- When a process is conditioned as to its rapidity by a number of separate factors, the rate of the process is limited by the pace of the 'slowest' factor (BLACKMAN 1905).

Pour lever toute ambiguïté, il est commode de faire appel à un formalisme introduit par KOLKER (1987). Le phénomène de croissance est la résultante de la catalyse simultanée de plusieurs milliers de réactions ayant chacune leur propre cinétique. Notons S_1, S_2, …, S_M toutes les variables d'état nécessaires à la description exhaustive de la croissance. Que savons nous de la cinétique des étapes individuelles in vivo ? En vérité peu de choses, si ce n'est qu'elle est une fonction complexe ou interviennent la concentration en substrat de la réaction considérée, la concentration en catalyseur, la concentration en inhibiteurs ou en activateurs de la réaction, etc… Notons F_i la fonction qui, connaissant la valeur de toutes les variables d'état du système, nous donne la vitesse de la $i^{ème}$ réaction. Le principe de la réaction maîtresse dit qu'à un instant donné la vitesse de la croissance est limitée par la vitesse de la plus lente des étapes :

$$\frac{dB}{dt} = \min \{ F_1(S_1,S_2,\ldots,S_M), F_2(S_1,S_2,\ldots,S_M),\ldots,F_M(S_1,S_2,\ldots,S_M) \} \quad [I.20]$$

Le principe de la réaction maîtresse ne dit pas que c'est toujours la même étape qui est limitante. Nous pouvons facilement imaginer que deux jeux de valeurs différents pour les variables d'état donnent deux étapes limitantes différentes. Une étape qui serait toujours limitante, indépendamment de la valeurs des variables d'état, serait elle une étape déterminante. Or, il nous faut postuler une étape déterminante au comportement Michaelien pour pouvoir obtenir le modèle de Monod. Il n'y a aucune raison théorique pour qu'une telle étape déterminante existe. Mais cela ne suffit pas à discréditer entièrement l'interprétation Michaelienne du modèle de Monod. En effet, il est possible d'essayer de justifier l'existence d'une réaction déterminante sur la base d'arguments plus biologiques.

Le phénomène de croissance est le fait de micro-organismes dont le métabolisme est régulé de façon extrêmement précise : tout concourt à un ajustement précis des vitesses de réaction au potentialités de l'environnement. Imaginons qu'il existe effectivement chez un individu donné une étape limitante. Cette étape est un goulot d'étranglement, et en conséquence le produit qui est immédiatement en amont s'accumule. Il n'est pas difficile de se convaincre que la sélection naturelle avantagera les mutants qui géreront mieux cette situation (par exemple en augmentant la concentration intracellulaire de l'enzyme catalysant cette étape, ou en diminuant la vitesse de production du produit en amont, ou en ouvrant une voie métabolique annexe pour utiliser à bon escient ce surplus). Les individus régulant leur métabolisme de façon à ce que la cinétique de toutes les réactions soit adaptée à la cadence de la réaction limitante seront ainsi sélectionnés. La réaction limitante deviendrait alors virtuellement déterminante par le jeu des régulations métaboliques (au sens large).

1.4.3 L'HYPOTHESE DE L'ETAT PSEUDO-STATIONNAIRE

Acceptons en tant qu'hypothèse de travail cette notion de réaction déterminante, et voyons si elle nous permet de trouver une justification théorique à l'analogie entre le

modèle de Monod et celui de Michaelis et Menten. Le modèle de Michaelis et Menten peut être établi (BRIGGS et HALDANE 1925) en appliquant la loi d'action de masse à une équation stœchiométrique,

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} C \xrightarrow{k_2} E + P \qquad [I.21]$$

et en postulant un état pseudo-stationnaire pour le complexe intermédiaire enzyme-substrat C. Cette justification est largement traitée par ailleurs (e.g. ROBSON et GARNIER 1986, MILLIER 1982, JOLIVET 1983, JEAN 1990,…), et les conditions de validité de l'hypothèse de l'état pseudo-stationnaire bien connues (SEGEL 1984).

L'équation stœchiométrique [I.21] ne pourrait pas représenter un phénomène de croissance parce que le catalyseur doit nécessairement être un des produits de la réaction. Comme l'on fait de nombreux auteurs (KOMPALA et al. 1986, FUJIMOTO 1963, HAN et LEVENSPIEL 1988, LEVENSPIEL 1980, VERHOFF et al. 1972, SZEDLACSEK 1982, PETROVA et al. 1977, KARGI 1977), nous modifions légèrement l'équation précédente pour tenir compte de l'aspect autocatalytique du phénomène :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} C \xrightarrow{k_2} E + E \qquad [I.22]$$

En appliquant la loi d'action de masse, nous obtenons le système d'équations différentielles suivant :

$$\begin{cases} \dfrac{dE}{dt} = -k_1ES + k_{-1}C + 2k_2C \\ \dfrac{dS}{dt} = -k_1ES + k_{-1}C \\ \dfrac{dC}{dt} = k_1ES - k_{-1}C - k_2C \end{cases} \qquad [I.23]$$

avec $E(0) = E_o$, $S(0) = S_o$, et $C(0) = C_o$

La loi de la conservation de la matière,

$$E + S + 2C = E_o + S_o + 2\,Co = \alpha \qquad [I.24],$$

nous permet de simplifier le système [I.23] :

$$\begin{cases} \dfrac{dS}{dt} = -k_1(\alpha - S - 2C)S + k_{-1}C \\ \dfrac{dC}{dt} = k_1(\alpha - S - 2C)S - k_{-1}C - k_2C \\ S(0) = S_o \\ C(0) = C_o \end{cases} \qquad [I.25]$$

Si nous faisons l'hypothèse de l'état pseudo-stationnaire pour le complexe intermédiaire C,

$$\frac{dC}{dt} = 0 \qquad [I.26],$$

nous tirons alors facilement de [I.25] la valeur de C en fonction de S. Pour bien mettre en évidence que cette valeur est calculée sous l'hypothèse de l'état pseudo-stationnaire, nous la noterons $\overline{C}$:

$$\overline{C} = \frac{k_1S^2 - k_1\alpha S}{-2k_1S - k_{-1} - k_2} = \frac{S^2 - \alpha S}{-2S - \dfrac{k_{-1} + k_2}{k_1}} = \frac{S^2 - \alpha S}{-2S - K_m} \qquad [I.27].$$

Et, toujours sous l'hypothèse de l'état pseudo-stationnaire, nous avons d'après le système [I.23] :

$$\frac{dS}{dt} = -k_2\overline{C} = k_2\frac{\alpha S - S^2}{2S + K_m} \qquad [I.28]$$

Si nous retournons à l'équation stœchiométrique de départ [I.22], et que nous prenions pour biomasse B tout ce qui n'est pas le substrat S, nous avons alors :

$$B = 2C + E \qquad [I.29]$$

et

$$\frac{dB}{dt} = 2\frac{dC}{dt} + \frac{dE}{dt} = \frac{-dS}{dt} \qquad [I.30]$$

Fig. 1.9

VALIDITE DE L'HYPOTHESE DE L'ETAT PSEUDO-STATIONNAIRE

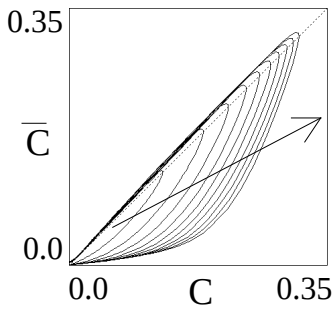
La validité de l'hypoyhèse de l'état stationnaire pour le complexe C est testée ici en comparant les valeurs prises par C à celles que l'on devrait obtenir si l'hypothèse était parfaitement vérifiée.

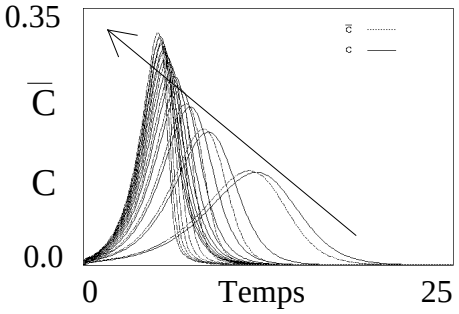
```
modele autocatal;
etat
    E=0.01[0,1.1],
    S=1.0[0,1.1],
    C=0.0[0,0.35];
param
    k1=1,km1=0.1,k2=1;
aux
    V[0,1],
    Cstat[0,0.35];
debut

Cstat=(1.01*S-S*S)/(2*S+(km1+k2)/k1)
;
    V=k1*E*S -km1*C;
    E'=-V +2*k2*C;
    S'=-V;
```

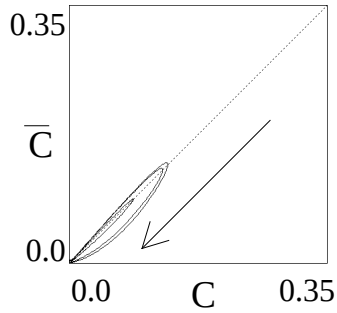
Transcription avec Dynamac (ROUSSEAU 1987, 1988) du système d'équations différentielles correspondant à l'équation stœchiométrique :

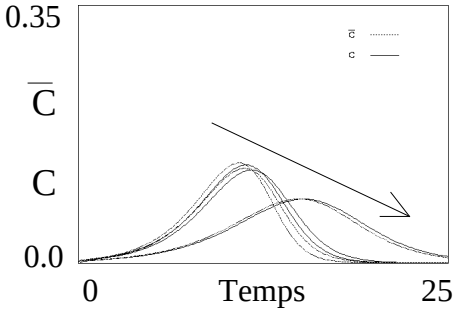
$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} C \xrightarrow{k_2} E + E$$



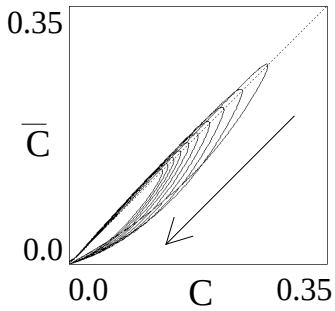


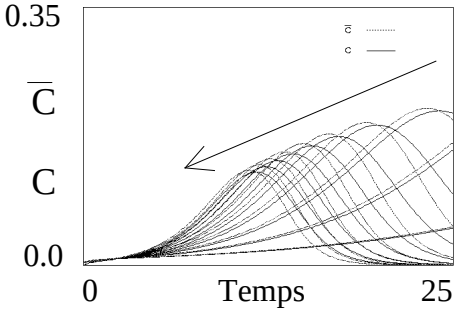
Effet d'une augmentation de la valeur du paramètre k_1
Valeurs : 1, 2 , 3, …,10





Effet d'une augmentation de la valeur du paramètre k_{-1}
Valeurs : 0, 0.1, 1.0





Effet d'une augmentation de la valeur du paramètre k_2
Valeurs : 0.1, 0.2, …, 1.0

Si nous exprimons le taux de croissance μ de la biomasse en fonction de la concentration en substrat,

$$\mu = \frac{dB}{Bdt} = \frac{1}{2C + E} k_2 \frac{\alpha S - S^2}{2S + K_m} = \frac{k_2}{2} \frac{S}{S + \frac{K_m}{2}} \qquad [I.31],$$

nous retrouvons le modèle de Monod.

Pour avoir une idée de la validité de l'hypothèse de l'état pseudo-stationnaire, une solution simple consiste à simuler l'évolution du système [I.23] et de comparer les valeurs effectivement prises par C à celle de $\overline{C}$. Les simulations (cf. Fig. 1.9) montrent à que C est toujours en retard par rapport à la valeur théorique $\overline{C}$ qu'il devrait occuper si l'hypothèse de l'état pseudo-stationnaire était valide, et que l'écart peut parfois être considérable. L'hypothèse de l'état pseudo-stationnaire pour C est donc suspecte, et en conséquent la justification du modèle de Monod que nous venons de présenter aussi.

1.5 RESUME DU PREMIER CHAPITRE

Le modèle de croissance de Monod s'est imposé lentement comme une référence pour décrire la croissance des populations de micro-organismes. Il est utilisé aujourd'hui dans tous les champs d'application de la microbiologie. Les valeurs estimées des paramètres de ce modèle sont extrêmement variables, même pour une seule espèce et un seul substrat limitant. Si la signification biologique du paramètre μ_{max} est claire, l'utilisation de l'inverse du paramètre K_s pour caractériser l'affinité d'une population de micro-organismes pour un substrat limitant est en revanche douteuse. L'utilisation du rapport de Healey semble préférable dans ce cas. L'analogie entre le modèle de Michaelis et Menten et celui de Monod est tellement omniprésente qu'elle constitue un point de départ obligé pour qui cherche une assise théorique au modèle de Monod. Malheureusement, cette analogie se révèle être une fausse piste car elle repose sur les hypothèses très discutables de l'existence d'une réaction déterminante et de celle de l'état pseudo-stationnaire pour le complexe intermédiaire. Ceci est fort regrettable car un lien formel entre les deux modèles eût permis l'importation à peu de frais de concepts intéressants, comme ceux des modèles enzymatiques d'inhibition (compétitive, non compétitive, incompétitive) pour rendre compte de la croissance en présence d'agents anti-bactériens. Ce constat d'échec n'est même pas pertinent car trop trivial il n'intéresse pas les théoriciens, et trop négatif il est inutile aux microbiologistes.

2. JUSTIFICATION DU MODELE DE MONOD

ou LE SENS RETROUVE

2.1 APPROCHE HEURISTIQUE A L'AIDE D'UN AUTOMATE CELLULAIRE

2.1.1 INTRODUCTION

Il serait commode pour analyser le modèle de Monod de pouvoir contrôler précisément les caractéristiques physiologiques des micro-organismes, par exemple en fixant à volonté l'affinité des bactéries pour le substrat. Ceci est bien évidement impossible avec du matériel biologique, et il ne reste que le recours aux simulations. Nous nous sommes tournés vers la définition d'un automate cellulaire permettant de simuler de façon réaliste la croissance bactérienne dans des cultures en cuvée.

Dans le contexte présent, l'intérêt d'un automate cellulaire réside en la possibilité d'étudier l'effet de paramètres locaux (les caractéristiques "physiologiques" des individus) sur le comportement global du système (les paramètres de la croissance de la population). Ce passage du "microscopique" au "macroscopique" est analogue à l'utilisation des microétats et macroétats en thermodynamique statistique.

2.1.2 DEFINITION DE L'AUTOMATE CELLULAIRE

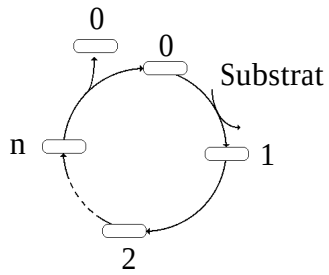
L'élément de base de l'automate cellulaire est un réseau de cellules carrés dont la contrepartie au niveau informatique est un tableau à deux dimensions. Nous avons utilisé pour toutes les simulations une matrice de taille 100 X 100 éléments utiles, mais qui est en fait légèrement sur-dimensionnée pour éviter d'avoir à gérer de façon particulière les cellules qui se trouvent en bordure du réseau.

Les cellules de ce réseau peuvent être vides, contenir une unité de substrat, une bactérie, ou éventuellement les deux. Chaque cellule peut donc se trouver à un instant donné dans un des quatres états suivants :

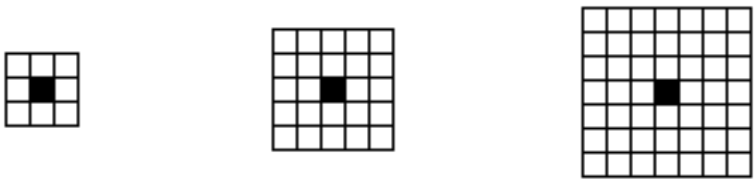
- Vide
- Contenant une unité de substrat
- Contenant une bactérie
- Contenant une bactérie et une unité de substrat

L'évolution de l'automate est gouvernée par une règle simple, qui est la même pour toutes les cellules, et ne change pas au cours du temps. A partir d'une condition initiale donnée, on applique cette règle à toutes les cellules du réseau pour simuler l'évolution du système. On note à chaque étape une variable macroscopique qui représente l'état du système : le nombre de bactéries présentes. La condition initiale que nous avons retenue lors de nos simulations consistait en une bactérie et 500 unités de substrat placées aléatoirement sur le réseau.

A chaque nouvelle itération, on commence par répartir au hasard sur le réseau toutes les bactéries qui sont bloquées dans l'état noté 0. Cet état "physiologique" est celui des bactéries qui, faute d'avoir pu absorber une unité de substrat, ne peuvent pas continuer leur cycle.



On recherche alors pour ces bactéries s'il existe au moins une unité de substrat dans leur proche voisinage. L'étendue du voisinage exploré est variable selon les espèces, mais il s'agit toujours d'une région carré, centrée sur la position de la bactérie. La position centrale fait partie du voisinage :



Deux cas de figure se présentent alors selon qu'une unité de substrat est disponible dans le voisinage de la bactérie ou non. i) Si aucune unité de substrat n'est présente, alors la bactérie reste dans l'état physiologique 0, et devra attendre la prochaine itération pour avoir une nouvelle chance de se nourrir. ii) Si au moins une unité de substrat est présente dans le voisinage de la bactérie, elle en consomme alors une et passe dans l'état physiologique supérieur noté 1. Une fois l'état physiologique 1 atteint, la bactérie passe spontanément (sans consommation de substrat) dans les états physiologiques suivants (notés 2, 3, etc…), et ce jusqu'à atteindre l'état critique n où elle se divisera pour donner deux nouvelles bactéries dans l'état physiologique 0. Dans les simulations suivantes, nous avons fait varier n entre 1 et 5. En résumé, les deux paramètres "physiologiques" que nous contrôlons au niveau "microscopique" avec cet automate cellulaire sont d'une part l'étendu du voisinage exploré par la bactérie pour se nourrir, et d'autre part la durée minimale du cycle cellulaire.

2.1.3 COURBES DE CROISSANCE SIMULEES

2.1.3.1 ASPECT GENERAL

L'allure générale des courbes de croissance est celle d'une sigmoïde (cf. Fig. 2.1). L'asymptote horizontale inférieure correspond à la population initiale qui compte tenu de l'inoculum choisi est de une bactérie. L'asymptote horizontale supérieure donne la valeur de la population maximale atteinte lorsque toutes les unités de substrat initialement présentes ont été consommées. De par les conditions initiales retenues, la population maximale est de 501 bactéries. Les courbes présentent en général un point d'inflexion assez haut, en fin de croissance, lorsque la population a dépassé la moitié de la population maximale.

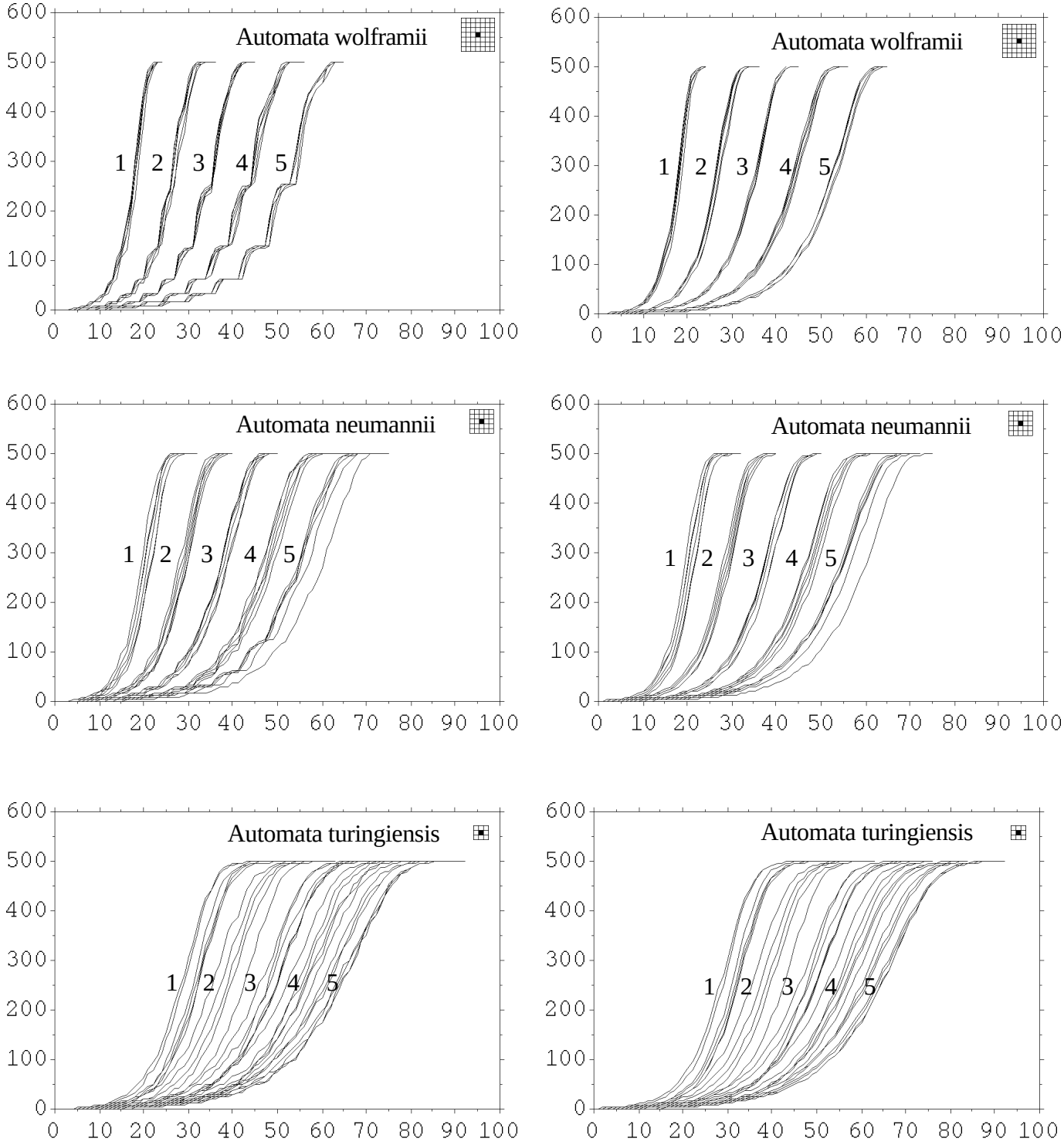
2.1.3.2 SYNCHRONICITE ET DE-SYNCHRONISATION

Une synchronicité dans la croissance des individus de la population est parfois visible (cf. Automata wolframii), donnant des courbes de croissance en marches d'escaliers. Cette synchronicité n'est pas surprenante puisque la méthode de simulation utilisée est par essence discrète : si toutes les bactéries dans l'état 0 trouvent dès leur apparition une unité de substrat, la population va doubler régulièrement toutes les n+1 itérations, suivant en cela le modèle de croissance exponentiel en temps discret. Mais la synchronicité de la division des individus est perdue progressivement avec l'épuisement du substrat car sa raréfaction rend moins systématique l'appropriation au premier essai d'une unité de substrat par les bactéries. Les cycles bactériens sont alors progressivement dé-synchronisés, et les marches d'escaliers des courbes de croissance progressivement érodées. La synchronicité est d'autant plus visible que le voisinage de l'espèce concernée est important : Automata wolframii tolère des concentrations en substrat très faibles avant que la probabilité de non-obtention de substrat soit suffisamment importante pour dé-synchroniser la population.

Fig. 2.1

SIMULATION AVEC L'AUTOMATE CELLULAIRE

Courbes de croissances simulées avec l'automate cellulaire (à gauche) et le meilleur ajustement au modèle de MONOD (à droite). Le temps (nombre d'itérations) est porté en abscisse, la biomasse (nombre de cellules bactériennes) en ordonnée. Chaque simulation a été répétée six fois, le nombre indiqué à coté de chaque faisceau de courbe donne le temps de génération (n) correspondant.



2.1.3.3 FLUCTUATIONS

Pour un voisinage et un temps de génération donnés, les courbes ne sont pas exactement superposables d'une simulation à l'autre. Ces fluctuations sont dues à l'aspect aléatoire de la recherche du substrat par les bactéries. Ces fluctuations sont néanmoins relativement faibles, et elles permettent de distinguer les souches les unes des autres dans le cas de Automata neumannii et de Automata wolframii. Cependant, un chevauchement des courbes extrêmes est visible pour Automata turingiensis. Les fluctuations sont d'autant plus marquées que l'étendue du voisinage est faible en raison du renforcement de la composante aléatoire que représente la recherche du substrat.

2.1.3.4 INFLUENCE DES PARAMETRES "PHYSIOLOGIQUES"

Etendue du voisinage

Pour un temps de génération donné, les espèces croissent d'autant plus vite que leur voisinage est étendu. Ainsi, pour n = 5, la population maximale est obtenue en environ 60 itérations pour Automata wolframii (voisinage de 49 cellules), 70 itérations pour Automata neumannii (voisinage de 25 cellules), et 90 itérations pour Automata turingiensis (voisinage de 9 cellules).

Temps de génération

Pour un voisinage donné, les souches croissent d'autant plus rapidement que leur temps de génération est court. Pour Automata neumannii par exemple la population maximale est atteinte en environ 25 itérations pour n=1 contre près de 70 itérations pour n=5.

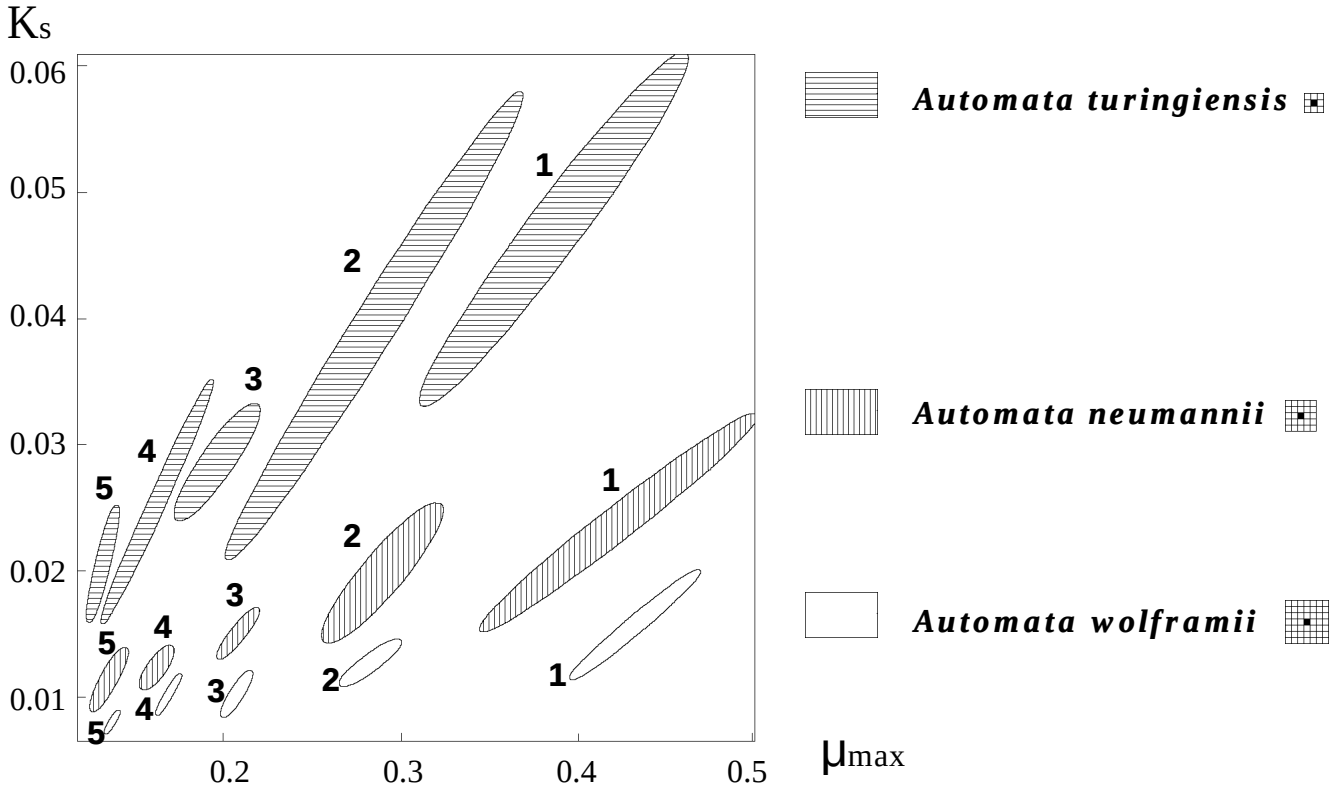
2.1.4 AJUSTEMENT AU MODELE DE MONOD

Pour les 3 voisinages et les 5 temps de génération retenus, les simulations ont été répétées 6 fois. Les 90 courbes de croissance obtenues ont été ensuite résumées avec le modèle de Monod pour déterminer les paramètres "macroscopiques". Le critère d'ajustement retenu est celui des moindres carrées ordinaires, il a été localisé en utilisant la routine ZXSSQ de la bibliothèque d'IMSL. Cette routine est basée sur une méthode classique, du type de celle de LEVENBERG (1944) et MARQUARDT (1963), modifiée par BROWN et DENNIS (1972). Comme le modèle de Monod ne possède pas de solution analytique donnant la population comme variable prédite, il a été intégré numériquement par une méthode du type Runge-Kutta (routine DVERK d'IMSL). Le modèle reproduit de façon satisfaisante les courbes de croissance générées par l'automate cellulaire, lissant les irrégularités dues aux pousses synchrones.

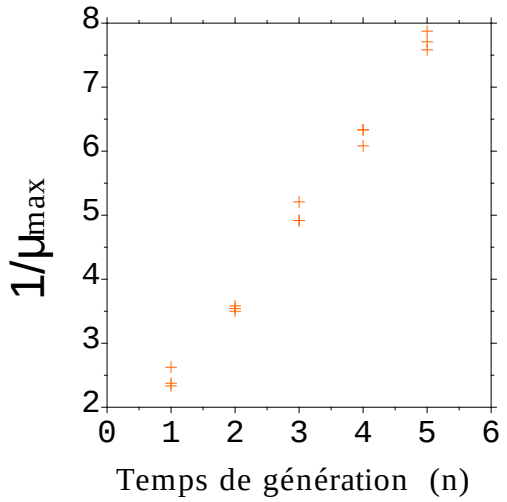
Fig. 2.2

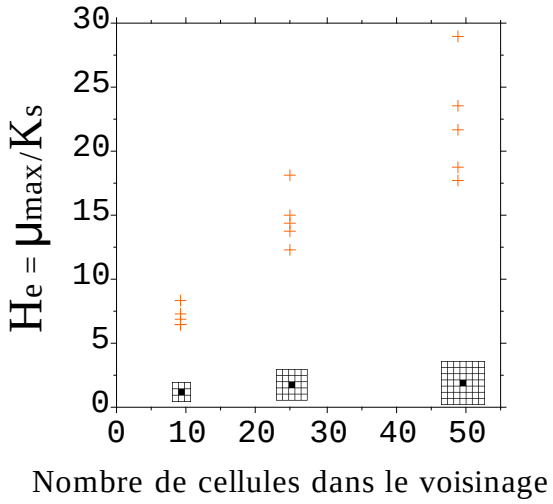
ESTIMATIONS DES PARAMETRES DU MODELE DE MONOD

Estimation des paramètres du modèle de MONOD à partir des courbes simulées avec l'automate cellulaire. Chaque ellipse donne la région de confiance à 95% pour la valeur des paramètres, le nombre en vis à vis donne le temps de génération (n) correspondant



Relation entre les caractéristiques "physiologiques" des souches et la valeur des paramètres "macroscopiques". L'inverse du taux de croissance maximum est proportionnel au temps de génération (n). Le rapport de HEALEY est proportionnel au nombre de cellules du voisinage de chaque espèce.





Les valeurs des paramètres obtenues pour chaque jeu de six répétitions ont été résumées en calculant les ellipses de confiance à 95% pour la valeur des paramètres (cf. Fig. 2.2). Ces ellipses donnent pour chaque souche, dans le plan (μ_{max},K_s), la région la plus probable pour la valeur des paramètres de croissance de la souche concernée. La surface des ellipses augmente quand le taux de croissance maximum augmente : quand une souche pousse rapidement moins de points sont disponibles pour estimer la valeur des paramètres, et par conséquent la précision de l'estimation des paramètres est amoindrie. Pour un temps de génération donné, la taille des ellipses augmente quand l'étendue du voisinage diminue. Ceci est dû à l'abaissement du point d'inflexion : quand l'étendue du voisinage se restreint les courbes de croissance tendent vers une logistique qui est un cas dégénéré du modèle de Monod. Les paramètres sont alors plus difficiles à estimer de façon univoque (les cas de surparamétrisation du modèle de Monod seront étudiées plus en détail dans le chapitre 3).

Pour un même temps de génération, le paramètre μ_{max} ne varie pas sensiblement d'une espèce à l'autre. Ce paramètre est bien le reflet au niveau macroscopique du temps de génération des individus : plus le temps de génération est court, plus le taux de croissance maximum est grand (cf. chapitre 1). En revanche, pour un même voisinage, le paramètre K_s varie sensiblement avec le temps de génération. La valeur du paramètre K_s croît de façon linéaire avec la valeur de μ_{max} (les coefficients de corrélation linéaire sont de 0.979 pour Automata wolframii, 0.989 pour Automata neumannii, et de 0.993 pour Automata turingiensis). La valeur du paramètre K_s ne reflète pas de façon intrinsèque l'affinité des bactéries pour le substrat puisque sa valeur varie avec celle de μ_{max}. La croissance linéaire du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max} impose quasiment ici l'utilisation du rapport de HEALEY (1980) pour caractériser l'affinité de la population bactérienne pour son substrat.

2.1.5 CONCLUSION

L'approche heuristique utilisée ici nous a donné l'intuition que pour pouvoir générer des courbes de croissance présentant un point d'inflexion haut, donc un phénomène de saturation au niveau du taux de croissance de la population, il était absolument indispensable d'introduire un délai pour la production de la biomasse. Cette intuition était renforcée par les travaux de BERMUDEZ et al. (1989) qui de façon indépendante avaient également introduit un délai dans leur "Barcelonagram". Elle suggèrait une justification plus formelle du modèle de Monod en donnant envie de passer "aux limites" pour s'affranchir de la référence à l'automate cellulaire.

2.2 JUSTIFICATION FORMELLE

2.2.1 INTRODUCTION

Nous cherchons ici à formaliser les constatations faites précédemment avec l'automate cellulaire. Le point de départ n'est pas un modèle de cinétique enzymatique mais le modèle de croissance logistique (VERHULST 1845, 1847). L'idée principale consiste à introduire un délai dans l'équation différentielle correspondant à ce dernier et de montrer que l'on retrouve le modèle de Monod (LOBRY et al. 1991). Cette idée est vraisemblablement originale : les articles citant les travaux de Monod relatifs à la croissance publiés dans les revues à caractère théorique (Bulletin of Mathematical Biology, Journal of Mathematical Biology, Journal of Theoretical Biology, Mathematical Biosciences, SIAM Journal on Applied Mathematics, Biometrics, Lecture Notes in Biomathematics et Theoretical Population Biology) n'en font pas mention (BALTZIS et FREDRICKSON 1984, BUSH et COOK 1976, BUTLER et WOLKOWICZ 1985, 1986, 1987, BUTLER et al. 1983, CROWLEY 1975, CROWLEY et al. 1980, DEGN et HARRISON 1969, FREDRICKSON et al. 1973, FUJIMOTO 1963, FUNAKOSHI et YAMADA 1980, GYLLENBERG 1982, HANSCHE 1969, HARRISON 1979, HARTE 1982, HJORTSO et BAILEY 1982, HO et SHULER 1977, HOLMBERG 1982, HSU 1988, HSU et al. 1977, JOST et al. 1973, KEENER 1983, 1985, KOCH 1972, 1974, 1982, KOLKER 1987, MACDONALD 1978, MIZRAJI et LIN 1982, NISHIMURA et BAILEY 1980, NOACK 1968, NOVAK et LASZLO 1986, NUNNEY 1981, PARNAS et COHEN 1976, PENNING DE VRIES et al. 1974, PERRAM 1973, RENNEBOOG-SQUILBIN 1967, ROSS 1973, SAUNDERS et BAZIN 1975, SCHOENER 1973, SMITH 1981, SMOUSE 1980, 1981, SPICER 1955, STEPHANOPOULOS et al. 1979, STEPHANOPOULOS et FREDRICKSON 1981, STEWART et LEVIN 1984, SWANSON et al. 1966, VAN DER HOEVEN 1984, VILLARREAL et al. 1976, WILLIAMS 1967, WÖRZ-BUSEKROS et LANGE 1983, WYATT 1964).

2.2.2 L'APPROXIMATION DU MODELE LOGISTIQUE

Considérons des cellules bactériennes et des molécules de substrat sujettes au mouvement Brownien : elles se déplacent de façon aléatoire dans le milieu, et entrent parfois en collision. Quand une collision a lieu, elle peut éventuellement conduire à l'assimilation du substrat par la biomasse, ou en d'autres termes à la conversion irréversible[1] d'une molécule de substrat en biomasse,

$$B + S \rightarrow B + B \qquad [II.1].$$

Dans des conditions idéalisées, de par la loi d'action de masse, la vitesse de croissance est proportionnelle au produit de la biomasse et de la concentration en substrat,

[1] Le caractère irréversible de l'assimilation du substrat par la biomasse est assez raisonnable pour les échelles de temps qui nous intéressent. Par exemple, chez Escherichia coli le transport du glucose est couplé à sa phosphorylation. Cette opération confère au glucose un caractère très hydrophile interdisant les pertes par diffusion via la barrière hydrophobe de la membrane cytoplasmique (ERNI 1989).

$$\frac{dB}{dt} = k.B.S \qquad [II.2],$$

où k est l'analogue d'une constante de vitesse d'une réaction chimique. Cependant, nous ne somme pas dans le cas d'une réaction chimique parce que la biomasse n'est pas un composé défini. Ceci est la raison de l'allusion sus-mentionnée aux conditions idéalisées : pour pouvoir légitimement utiliser l'équation [II.2] il faut que la composition de la biomasse soit constante, que la contribution du substrat à la formation de la biomasse soit constante, et enfin que le rapport surface/volume soit constant au niveau populationnel. Dans ces conditions, nous pouvons exprimer la concentration en substrat en fonction de la concentration en biomasse [*cf.* I.9] pour faire apparaître le modèle de croissance logistique :

$$\frac{dB}{dt} = k.B.(B_m-B)/R = \frac{k.B_m}{R}\ B(1 - \frac{B}{B_m}) \qquad [II.3].$$

Ce modèle de croissance a été utilisé de façon intensive. Bien qu'il ait été créé par VERHULST (1845, 1847) pour modéliser la croissance de populations humaines, et redécouvert par PEARL et REED (1920) pour le même objet, quelques applications à la croissance des micro-organismes ont été publiées (RICHARDS 1928, GREAVES et al. 1934, PRATT 1940, MITSUHASHI et TAKEUCHI 1951, JASON 1983, CORMAN et al. 1986, GIBSON et al. 1987, MORRISON et al. 1987, COMBY et al. 1988, ROCHET et FLANDROIS 1989, GOULD et al. 1989, ZWIETERING et al. 1990). L'essence du modèle de croissance logistique est que le taux de croissance est supposé proportionnel à la concentration d'un produit qui est utilisé lorsque la population croît. Quand la concentration en substrat limitant est faible, le modèle logistique est une approximation pleinement justifiée.

Le problème soulevé par l'équation [II.2] est que le taux de croissance peut être augmenté indéfiniment en augmentant la concentration en substrat limitant. Cette propriété est indésirable puisqu'il est bien établi que le taux de croissance ne peut pas dépasser une certaine limite. Il nous faut donc modifier l'équation [II.2] pour rendre compte de cette limite supérieure.

2.2.3 L'INTRODUCTION D'UN DELAI

L'idée est de considérer que la conversion du substrat en biomasse n'est pas instantanée. En effet, les phénomènes qui suivent la pénétration d'une molécule de substrat dans une cellule sont d'une complexité extrême : des milliers de réactions différentes et des milliers de composés intermédiaires sont impliqués (NEIDHARDT et al. 1987). Il semble donc raisonnable d'un point de vue biologique de prendre en compte la notion d'un délai, c'est à dire d'un temps incompressible nécessaire pour convertir le substrat en biomasse.

En introduisant un délai τ dans la biomasse B, nous obtenons une équation différentielle avec délai :

$$\frac{dB}{dt} = k\, B(t-\tau).S \qquad \text{[II.4].}$$

Le délai n'a été introduit que dans une seule des deux variable d'état parce que l'on considère qu'il y a un délai pour la production de biomasse et non pour la consommation de substrat.

Les équations différentielles avec délai sont des outils intéressants de par la prévalance des phénomènes de latence en biologie[2] (LEGAY 1968, MACDONALD 1978). Malheureusement, ces objets ne sont pas d'une manipulation aisée, et de surcroît peu de résultats généraux les concernants sont disponibles. Pour cette raison, nous allons transformer [II.4] en une équation différentielle ordinaire. A cet effet, nous utilisons une approximation consistant en une série de Taylor pour exprimer $B(t-\tau)$ en fonction de $B(t)$:

$$B(t-\tau) \approx B(t) - \tau\frac{dB}{dt} \qquad \text{[II.5].}$$

Une simple combinaison des équations [II.4] et [II.5] nous conduit alors à une équation différentielle,

$$\frac{dB}{dt} \approx \frac{1}{\tau}\, B\, \frac{S}{\frac{1}{k\tau} + S} \qquad \text{[II.6],}$$

qui correspond à celle définissant le modèle de Monod [I.18] à condition que l'on ait :

$$\begin{cases} \mu_{max} = \dfrac{1}{\tau} \\ K_s = \dfrac{1}{k\tau} = \dfrac{\mu_{max}}{k} \end{cases} \qquad \text{[II.7].}$$

De l'examen des égalités [II.7], il ressort qu'une augmentation linéaire du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max} est attendue. Cette conséquence est inattendue car de 1941 à 1989 il ne semble pas qu'un tel lien entre les paramètres ait été signalé.

[2] Le premier modèle mathématique historiquement documenté de la dynamique des populations était un modèle avec délai (cf. PAVE 1980).

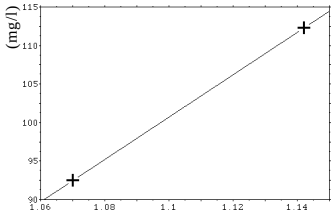
2.2.4 CONCLUSION

Nous avons proposé ici une justification théorique du modèle de Monod fondée sur la notion d'un délai incompressible pour la production de la biomasse. Cette justification théorique produit un énoncé, l'augmentation linéaire du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max}, satisfaisant au critère de réfutabilité. Mais plus important encore est sans doute le caractère semi-quantitatif de la prédiction faite. Cet aspect semi-quantitatif est en bonne adéquation avec la précision des résultats disponibles (cf. chapitre 1). En d'autres termes, l'aspect semi-quantitatif est un garant du caractère opérationnel du critère de réfutabilité. Enfin, grâce à l'utilisation intensive qui est faite du modèle de Monod de nombreuses données expérimentales ont été accumulées. Cette disponibilité des résultats est importante car elle permet de tester à moindre frais l'assertion avancée et de couvrir un large éventail de matériel biologique et de conditions expérimentales.

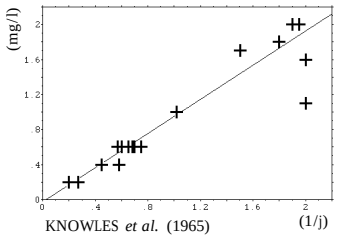
Fig. 2.3

RESULTATS EXTRAITS DE LA LITTERATURE

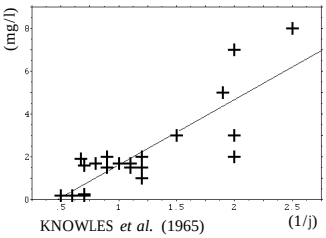
Les valeurs des paramètres du modèle de Monod pour une même souche et un même substrat limitant sont représentées graphiquement ci-dessous dans avec μ_{max} en abscisse et K_s en ordonnée (les données numériques correspondantes sont détaillées dans l'annexe 6.6). Les droites des moindres carrés ne sont représentées que pour souligner la tendance générale.



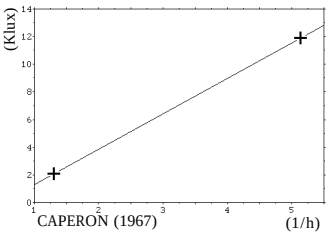
BOYLE et BERTHOUEX (1974) (1/h)
Escherichia coli
glucose



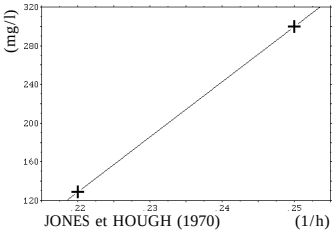
KNOWLES *et al.* (1965) (1/j)
Nitrosomonas sp.
NH3



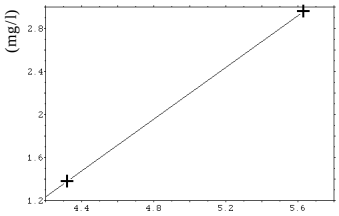
KNOWLES *et al.* (1965) (1/j)
Nitrobacter sp.
NH3



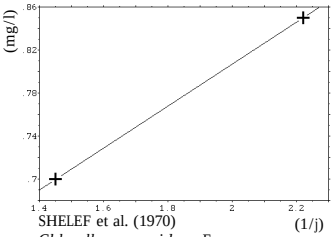
CAPERON (1967) (1/h)
Chlorella vulgaris
lumière



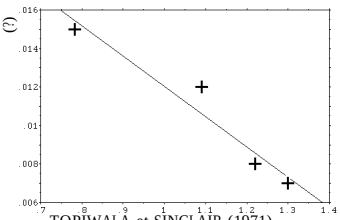
JONES et HOUGH (1970) (1/h)
Saccharomyces cerevisiae
glucose



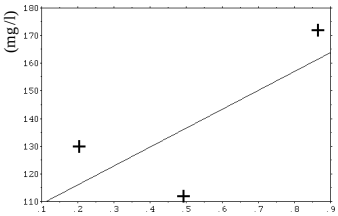
SHELEF et al. (1970) (1/j)
Chlorella pyrenoidosa TX 71105
Nitrate



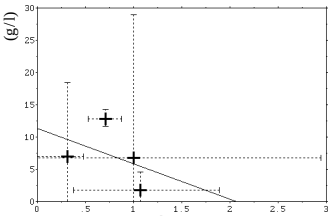
SHELEF et al. (1970) (1/j)
Chlorella pyrenoidosa Emerson
Nitrate



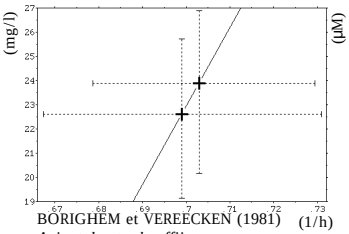
TOPIWALA et SINCLAIR (1971) (1/h)
Aerobacter aerogenes
glucose



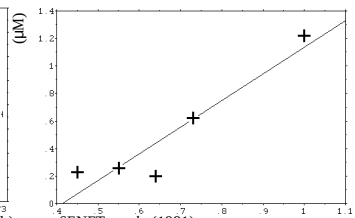
MUCK et GRADY (1974) (1/h)
indéterminé
glucose



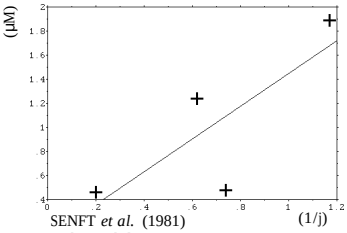
HOLMBERG *et al.* (1980) (1/h)
Bacillus thuringiensis
sucres totaux



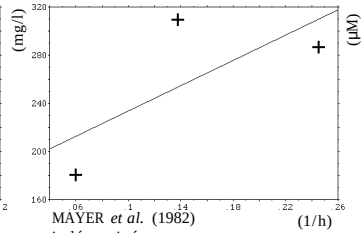
BORIGHEM et VEREECKEN (1981) (1/h)
Acinetobacter lwoffii
phénol



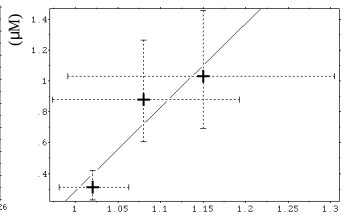
SENFT *et al.* (1981) (1/j)
Volvox aureus
Phosphore



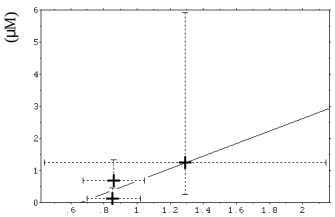
SENFT *et al.* (1981) (1/j)
Volvox globator
Phosphore



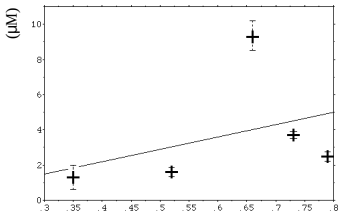
MAYER *et al.* (1982) (1/h)
indéterminé
lait



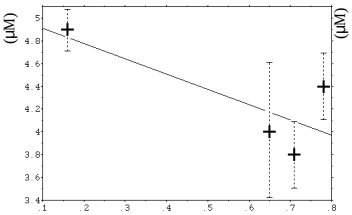
MECHLING et KILHAM (1982) (1/j)
Stephanodiscus minutus
Silicium (culture en cuvée)



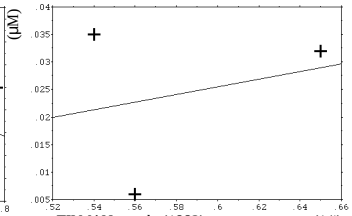
MECHLING et KILHAM (1982) (1/j)
Stephanodiscus minutus
Silicium (culture semi-continue)



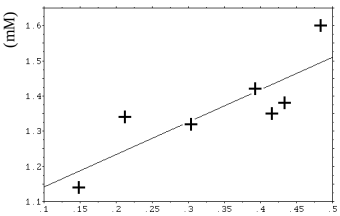
TILMAN *et al.* (1982) (1/j)
Asterionella formosa
Silicium



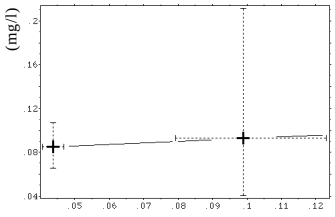
TILMAN *et al.* (1982) (1/j)
Synedra ulna
Silicium



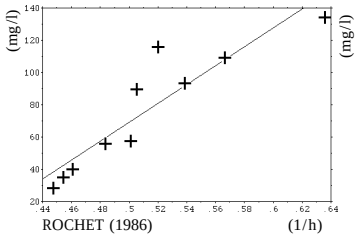
TILMAN *et al.* (1982) (1/j)
Oscillatoria agardhii
Phosphore



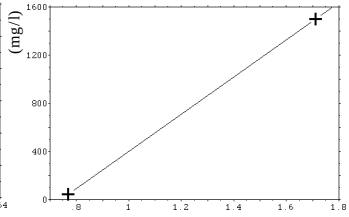
ITOH et TAKAHASHI (1984) (1/h)
Saccharomyces cerevisiae
glucose



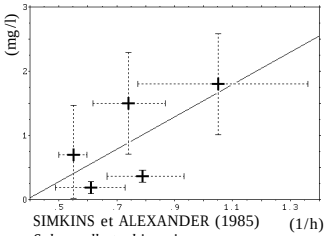
MECHSNER (1984) (1/h)
Achromobacter sp.
glucose



ROCHET (1986) (1/h)
Staphylococcus aureus
glucose



SENN (1989) (1/h)
Escherichia coli
glucose



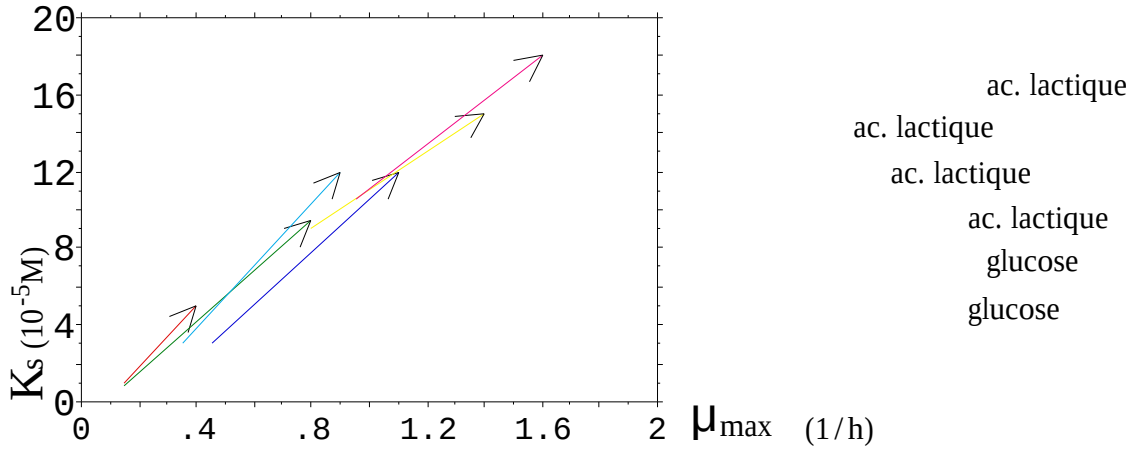
SIMKINS et ALEXANDER (1985) (1/h)
Salmonella typhimurium
glucose

2.3 UNE PREDICTION SEMIQUANTITATIVE VERIFIEE

Nous avons recherché dans la littérature les estimations, pour une même souche et un même substrat limitant, des valeurs du paramètre K_s pour différentes valeurs du paramètre μ_{max}. Les technique utilisées pour faire varier le taux de croissance maximum peuvent consister en une variation contrôlée de la température d'incubation (MAYER et al. 1982, MECHSNER 1984, MUCK et GRADY 1974, SHELEF et al. 1970, JONES et HOUGH 1970, TOPIWALA et SINCLAIR 1971, SENFT et al. 1981, ITOH et TAKAHASHI 1984, TILMAN et al. 1982, MECHLING et KILHAM 1982, KNOWLES et al. 1965), une variation non contrôlée des conditions expérimentales dans les manipulations de reproductibilité (ROCHET 1986, BOYLE et BERTHOUEX 1974, SCHULZE et LIPE 1964, HOLMBERG 1980), ou une modification de divers paramètres expérimentaux comme le passage de culture en cuvée aux cultures en continu (SENN 1989, BORIGHEM et VEREECKEN 1981) ou le pré-conditionnement lumineux pour les organismes photosynthétiques (CAPERON 1967). Pour ce qui est de la température, elle est susceptible de modifier la cinétique de toutes les réactions, c'est à dire de jouer à la fois sur la constante de vitesse k et le délai τ [*cf.* II.7]. Par exemple, une augmentation de la température dans la zone sub-optimale pourrait se traduire par une augmentation conjointe de la valeur de k et de celle μ_{max}. Comme K_s est inversement proportionnel à k [II.7], l'effet d'une augmentation de k ne pourrait être que de diminuer la valeur de K_s. Cet effet joue donc à l'encontre de l'augmentation de K_s avec μ_{max} et pourrait ainsi amoindrir l'effet escompté, sans que cela puisse le remettre en question s'il est observé.

La tendance généralement observée (cf. Fig. 2.3) est bien celle d'une augmentation de la valeur du paramètre K_s avec celle du paramètre μ_{max}, à l'exception de TOPIWALA et SINCLAIR 1971, HOLMBERG 1980 et TILMAN 1982 Il faut rester cependant extrêmement prudent dans l'interprétation de ces résultats parce que les intervalles ne confiance pour la valeur des paramètres ne sont pas toujours donnés par les auteurs. Quand ils le sont (HOLMBERG et al. 1980, BORIGHEM et VEREECKEN 1981, MECHLING et KILHAM 1982, TILMAN et al. 1982, MECHSNER 1984, SIMKINS et ALEXANDER 1985) les valeur des paramètres s'avèrent le plus souvent ne pas être significativement différentes (e.g. HOLMBERG et al. 1980, BORIGHEM et VEREECKEN 1981, MECHSNER 1984). Il n'en reste pas moins vrai que les valeurs rapportées (en particulier par KNOWLES et al. 1965, SENFT et al. 1981, MECHLING et KILHAM 1982, ITOH et TAKAHASHI 1984, ROCHET 1986, SIMKINS et ALEXANDER 1985) sont trop systématiquement biaisées dans le sens d'une augmentation de la valeur du paramètre μ_{max} avec celle du paramètre K_s pour que l'on puisse y voir là le seul fruit du hasard.

Il est tentant de faire le rapprochement avec les données rapportées par JANNASCH (1968). Il ne s'agit plus ici des valeurs de μ_{max} et K_s pour une même espèce dans des conditions de culture différentes, mais de l'évolution de la valeur des paramètres lorsque l'on effectue une opération de sélection sur la population. La sélection consiste ici à cultiver la population dans un chémostat avec des faibles concentrations en substrat limitant. L'évolution de la valeur des paramètres,



fait ressortir très nettement une augmentation conjointe de μ_{max} et de K_s. Un comportement analogue de la valeur des paramètres est également visible dans les résultats rapportés par KOCH et WANG (1982).

2.4 RESUME DU DEUXIEME CHAPITRE

L'approche heuristique consistant à simuler la croissance à l'aide d'un automate cellulaire a suggéré une justification formelle du modèle de Monod. Cette justification, fondée sur l'introduction d'un délai dans le modèle de croissance logistique, conduit à la prédiction a priori inattendue de l'augmentation de la valeur du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max}. Cette prédiction semble être observée dans la majorité des résultats publiés dans la littérature. Dans le cas de l'interprétation Michaelienne du modèle de Monod, ce lien entre la valeur des deux paramètres ne s'explique pas sans l'introduction d'hypothèses supplémentaires ad hoc. L'existence d'une augmentation du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max} ne semble pas avoir été remarquée, sans doute parce que les expériences n'ont pas été conduites dans ce but. Il ne reste à ce stade plus qu'à forcer l'observation, ce qui est l'objet du chapitre suivant.

3. K_S AUGMENTE-T-IL AVEC μ_{max} ?

ou BON SENS NE SAURAIT MENTIR

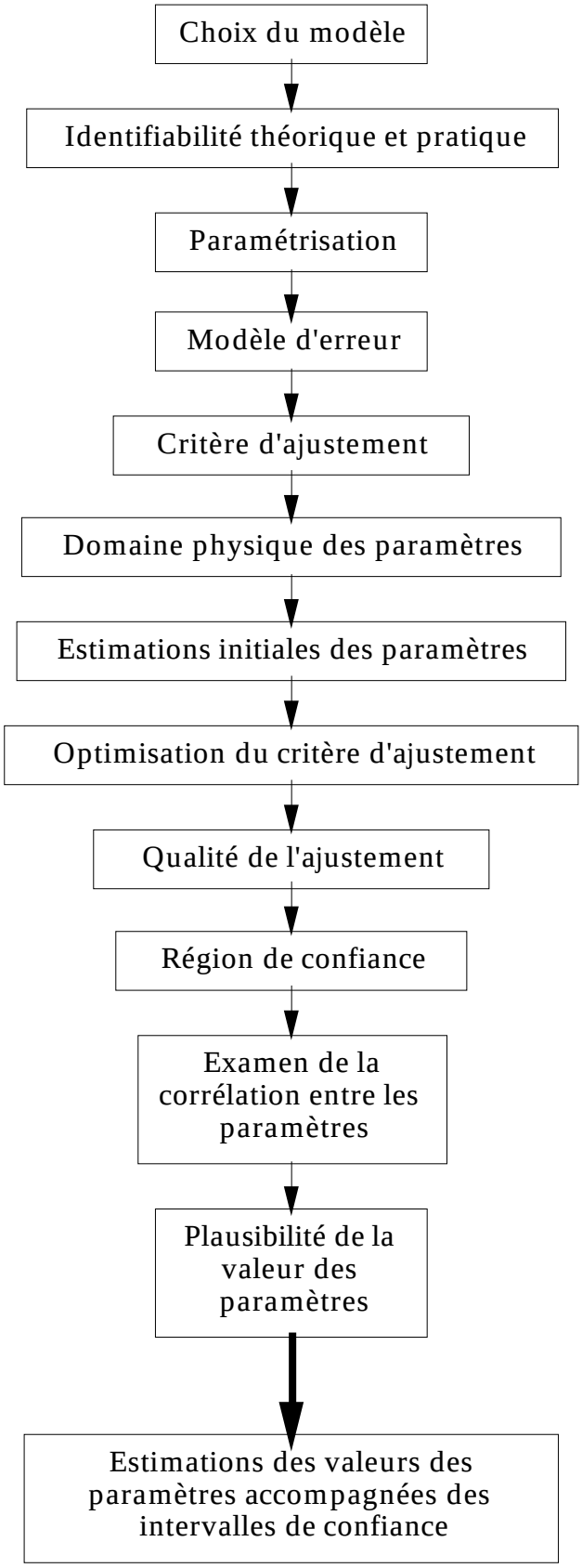
3.1 INTRODUCTION

L'estimation des paramètres d'un modèle consiste à calculer, à partir d'un jeu de données expérimentales, d'une part la valeur des paramètres du modèle qui rende compte au mieux de la réalité et d'autre part la confiance que l'on peut accorder à ces estimations. L'organigramme de la figure 3.1 schématise l'enchaînement typique des opérations à effectuer. On ne saurait trop insister sur le caractère caricatural d'un tel canevas. En pratique, plusieurs tâches peuvent être conduites simultanément, et les atermoiements et sauts d'étape sont monnaie courante. La seule prétention de ce synopsis n'est que d'être un raccourci graphique de la structure du présent chapitre.

Pour illustrer de façon constructive la démarche, nous nous intéresserons plus particulièrement à l'estimation des paramètres du modèle de Monod à partir de l'observation de la croissance d'une population de micro-organismes dans un milieu non renouvelé. Nous voulons tester la prédiction du chapitre précédent, à savoir l'existence d'une augmentation du paramètre K_S avec le paramètre μ_{max}. Les conditions expérimentales sont par contre imposées par des contraintes conjoncturelles liées au matériel utilisé (MOUSSEAU 1985, CORMAN et al. 1986, VOLCKMANN 1988, COMBY 1989).

Fig. 3.1

L'ESTIMATION DES PARAMETRES



3.2 IDENTIFIABILITE

3.2.1 INTERET DE L'ETUDE DE L'IDENTIFIABILITE

L'étude de l'identifiabilité d'un modèle doit permettre de dire si il est possible, à partir des données expérimentales potentiellement disponibles, d'estimer les valeurs de ses paramètres. C'est une question qu'il semble légitime de poser a priori car une mise en évidence précoce d'une situation de non identifiabilité permet de ne pas s'engager en vain dans des tentatives d'estimation. Il s'agit d'un préambule visant à étudier la faisabilité de l'identification des paramètres d'un modèle. L'étude de l'identifiabilité d'un modèle peut se conduire selon deux approches que l'on peut, par commodité, présenter de façon complémentaire : i) dans l'approche théorique les données expérimentales sont idéalisées pour essayer d'établir des résultats généraux ii) dans l'approche pratique un contexte expérimental est au contraire mimé le plus fidèlement possible afin d'étudier précisément l'identifiabilité des paramètres.

3.2.2 IDENTIFIABILITE THEORIQUE

L'étude de l'identifiabilité théorique d'un modèle commence par une étape de formalisation du problème visant à définir de façon monosémique ce que l'on entend par identifiabilité.

3.2.2.1 Formalisation cybernéticienne

Dans une conception très béhavioriste, ou cybernéticienne, le système étudié est représenté comme une boîte noire dont l'état interne est complètement masqué. Des stimulus afférents influent sur l'état du système dont dépendent les sorties.

Variables d'état. L'état interne du système est décrit par une liste de variables d'état (e.g. concentration en biomasse, concentration en substrat limitant,...) que l'on rassemble dans le vecteur d'état $\underline{x}$.
Variables en entrée. L'état interne du système est influencé par un certain nombre de variables en entrée (e.g. pH, température,...) que l'on représente par le vecteur d'entrée $\underline{u}$. On retrouve ici une notion qui était présente dans la première acceptation du terme cybernétique, introduite par Ampère en 1831, dans le sens de "moyen de gouvernement" (BRETON 90).
Variables en sortie. L'état interne du système joue sur les variables en sortie (e.g. concentration en un produit du métabolisme, concentration en biomasse,...) symbolisées par le vecteur de sortie $\underline{y}$. Ce vecteur représente donc une vision, éventuellement déformée et incomplète, de l'état du système.
Modèle et paramètres. Enfin, l'évolution du système au cours du temps, c'est à dire l'évolution du vecteur d'état $\underline{x}$, est donnée par un modèle M (e.g. le modèle de croissance de Monod) et la valeur des paramètres de ce modèle que l'on range dans le vecteur de paramètre $\underline{\theta}$. C'est précisément les valeurs de ce vecteur $\underline{\theta}$ que l'on cherche à déterminer.

3.2.2.2 Définition de l'identifiabilité

Il ne semble pas exister de consensus universellement reconnu quant à la définition même de l'identifiabilité. On retiendra ici la définition de l'identifiabilité structurelle globale d'un modèle présentée de façon formelle par WALTER (1982) parce que son interprétation correspond bien à l'idée intuitive que l'on peut se faire de l'identifiabilité.

Supposons que les valeurs des paramètres d'un modèle aient été estimées à partir des sorties du système étudié. Il serait extrêmement gênant qu'un autre jeu de valeurs des paramètres conduise au mêmes sorties du système : il ne serait alors plus possible de décider objectivement lequel d'entre ces deux jeux représente la réalité. Ce cas de figure est donc à proscrire absolument si l'on veut pouvoir déterminer de façon unique la valeur des paramètres. La définition de l'identifiabilité structurelle globale d'un modèle consiste essentiellement à dire que cette situation inopportune ne doit jamais être rencontrée, et ce quelles que soient les entrées du système et la valeur des paramètres. Si le modèle est structurellement globalement identifiable il est donc toujours possible de trancher entre deux jeux de valeurs pour les paramètres, ce qui revient à se placer dans des conditions de sécurité maximales pour estimer la valeur des paramètres.

3.2.2.3 La méthode imaginaire

Il existe deux approches pour prouver l'identifiabilité d'un modèle. La première consiste à montrer que l'on peut réduire le problème à un cas linéaire où de nombreux résultats généraux sont disponibles, mais encore faut il pouvoir s'y ramener. Dans la deuxième, on construit une méthode, plus ou moins imaginaire, pour estimer les paramètres et on montre que cette méthode conduit à une estimation unique de la valeur des paramètres.

La démarche que l'on suivra, proposée par POHJANPALO (1978), est une méthode d'identification imaginaire. Elle est intéressante car elle s'applique à tous les systèmes qui sont de la forme,

$$\begin{cases} \dot{\underline{x}}(t) = \underline{f}(\underline{x}(t);\underline{u}(t);t;\underline{\theta}) \\ \underline{x}(0) = \underline{x}_0(\underline{\theta}) \\ \underline{y}(t;\underline{\theta}) = \underline{g}(\underline{x}(t);\underline{\theta}). \end{cases} \qquad \text{[III.1]},$$

ce qui représente pour le moins un large éventail d'application.

Le principe est d'idéaliser les données expérimentales en supposant que les sorties du systèmes sont mesurées de façon parfaite, c'est à dire en continu et sans être entachées d'erreur expérimentale. Dans ces conditions, nous pouvons alors mesurer de façon exacte la valeur des dérivées successives $\underline{a}_k$ des sorties du système au temps initial,

$$\underline{a}_k = \lim_{t \to 0^+} \frac{d^k}{dt^k} [\underline{y}(t,\underline{\theta})] \qquad \text{[III.2]},$$

sous réserve que ces dérivées existent.

Pour que le modèle défini par les équations [III.1] soit structurellement globalement identifiable, une condition suffisante est que l'ensemble des équations,

$$\lim_{t \to 0^+} \frac{d^k}{dt^k} [\underline{g}(\underline{x}(t),\underline{\theta})] = \underline{a}_k, \quad k = 0,\ldots,\infty \qquad \text{[III.3]},$$

ait une solution unique pour $\underline{\theta}$. L'identifiabilité du modèle est donc étudiée par la possibilité de déterminer de façon unique la valeurs des paramètres à partir de la connaissance expérimentale de tous les termes du développement en série de Taylor de $\underline{y}$ au voisinage de t=0.

Cette méthode d'identification imaginaire a été appliquée avec succès par HOLMBERG (1982) dans le cas du modèle de croissance de Monod, complété par une mortalité spontanée de la biomasse,

$$\begin{cases} \dfrac{dx}{dt} = x\left(\dfrac{\mu_{max}\, s}{K_s+s} - K_d\right) \\ \dfrac{ds}{dt} = x\left(\dfrac{-1}{R}\,\dfrac{\mu_{max}\, s}{K_s+s}\right) \end{cases} \qquad \text{[III.4]},$$

où x représente la biomasse, s la concentration en substrat limitant, μ_{max} le taux de croissance maximum, K_s la concentration en substrat telle que le taux de croissance en l'absence de mortalité soit demi-maximal, R le “rendement” de la conversion du substrat en biomasse, et K_d le taux de mortalité de la biomasse.

Dans les conditions expérimentales qui nous intéressent, la concentration en substrat limitant n'est pas mesurée. Nous ne pouvons pas considérer l'identifiabilité du modèle de Monod comme démontrée par les résultats de HOLMBERG (1982) car cet auteur suppose que les deux variables d'état x et s sont mesurées au cours du temps. S’il est relativement facile de mesurer la biomasse sans interférer avec les conditions expérimentales, par contre, le dosage d'un substrat se fait presque obligatoirement avec des méthodes destructrices (elles en consomment inévitablement une certaine quantité). Pour que l'acte d'observation ne modifie pas les conditions in situ, il faut alors soit utiliser des volumes de milieu de culture importants pour que la quantité de substrat consommé pour le dosage devienne négligeable, soit prélever des échantillons de volume négligeable devant celui du milieu de culture. Le suivi de la concentration en substrat est donc beaucoup plus lourd à mettre en œuvre que celui de la biomasse seule quand l’on ne peut travailler qu’avec des micro-volumes.

Nous nous intéressons ici au cas de l'identifiabilité du modèle de Monod,

$$\begin{cases} \dfrac{dx}{xdt} = \mu_{max} \dfrac{s}{K_S + s} \\ \dfrac{ds}{dt} = \dfrac{-dx}{R\,dt} \\ x(0) = x_o \text{ avec } x_o \neq 0 \\ s(0) = s_o \text{ avec } s_o \neq 0 \end{cases} \qquad \text{[III.5]},$$

quand on ne dispose que du suivi de la biomasse. Précisons que l'étude qui suit ne présente aucun caractère d'originalité, il ne s'agit que d'une transposition assez transparente de l'article d'HOLMBERG (1982), mais qui se devait d'être écrite par acquis de conscience.

Le manque d'information sur la concentration en substrat est un problème que l'on peut éviter en attendant que la biomasse finale soit atteinte ($x = x_m$). Le système [III.5] peut alors se ré-écrire,

$$\begin{cases} \dfrac{dx}{dt} = x\,\mu_{max} \dfrac{(x_m-x)/R}{K_S + (x_m-x)/R} \\ x(0) = x_o \text{ avec } x_o \neq 0 \text{ et } x_o \neq x_m \end{cases} \qquad \text{[III.6]},$$

et le paramètre R se déduire des valeurs initiales et finales de la biomasse si la concentration initiale en substrat est connue :

$$R = \frac{x_m-x_o}{s_o} \qquad \text{[III.7]}$$

La détermination du paramètre R suppose que la concentration initiale en substrat limitant soit connue, ce qui est facilement réalisable sans effectuer de dosage pour peu que l'on travaille avec des milieux synthétiques dont on maîtrise la composition chimique.

Pour alléger l'écriture, nous exprimerons sans perte de généralité la biomasse en unités de substrat, ce qui revient à poser un rendement égal à l'unité :

$$\frac{dx}{dt} = x\,\mu_{max} \frac{x_m-x}{K_S + x_m-x} \qquad \text{[III.8]}.$$

Tel qu'il est écrit, le modèle de Monod est un cas simple de la forme générale [III.1] : la seule variable d'état est également l'unique variable de sortie. Il n'y a pas de variables de contrôle, ou plus exactement, les effets des facteurs susceptibles d'influencer la croissance sont neutralisés (température constante, milieu tamponné pour assurer un pH constant, agitation pour assurer l'homogénéisation et l'oxygénation du milieu). La série d'égalités suivantes représente le lien entre la forme générale [III.1] et la forme particulière [III.8] :

$$\underline{x} = [x(t)],\ \underline{\theta} = \begin{bmatrix} x_m \\ \mu_m \\ K_s \end{bmatrix},\ y(t) = x(t),\ x(0) = x_o \qquad \text{[III.9].}$$

Si nous supposons que des données idéales sont disponibles, il suffit d'attendre indéfiniment ($t = +\infty$) pour obtenir une estimation parfaite de x_m puisque c'est la valeur finale atteinte par la biomasse. Ainsi, le paramètre x_m est théoriquement identifiable.

Pour les deux paramètres restants, en utilisant la méthode de POHJANPALO nous écrivons un système,

$$\begin{cases} x_0\, \mu_{max} \dfrac{x_m - x_0}{K_s + x_m - x_0} = a_1 \\ a_1\, \mu_{max} \dfrac{K_s\,(x_m - 2x_0) + (x_m - x_0)^2}{(K_s + x_m - x_0)^2} = a_2 \end{cases} \qquad \text{[III.10],}$$

où la première équation est une simple réécriture de [III.8], et la deuxième est obtenue par différentiation.

Le système d'équation [III.10] admet une solution unique pour les paramètres μ_m et K_s, mais elle s'exprime différemment selon que la biomasse initiale corresponde ou non au point d'inflexion de la courbe de croissance :

$$\begin{cases} \text{le point d'inflexion est en } x_o \\ x_o = K_s + x_m - \sqrt{K_s^2 + K_s x_m} \\ \mu_{max} = \dfrac{(x_m - x_o)^2}{2x_o - x_m} \\ K_s = \dfrac{a_1}{2x_o - x_m} \end{cases} \qquad \text{[III.11],}$$

ou

$$\begin{cases} \text{le point d'inflexion n'est pas en } x_o \\ x_o \neq K_s + x_m - \sqrt{K_s^2 + K_s x_m} \\ \mu_{max} = \dfrac{a_1^3}{2x_o a_1^2 - x_o^2 a_2 - a_1^2 x_m + x_o a_2 x_m} \\ K_s = \dfrac{(a_1^2 - a_2 x_o)(x_m - x_o)^2}{2x_o a_1^2 - x_0^2 a_2 - a_1^2 x_m + x_o a_2 x_m} \end{cases} \qquad \text{[III.12].}$$

En supposant que des données parfaites soient disponibles, les paramètres x_m, μ_m et K_s peuvent être déterminés de façon unique, le modèle de Monod défini par

l'équation [III.8] est donc structurellement globalement identifiable quand on ne dispose que du suivi de la biomasse.

3.2.2.4 Conclusion sur l'identifiabilité théorique

Bien que l'identifiabilité théorique du modèle de Monod soit établie, dans de nombreux travaux transparaissent les difficultés rencontrées en pratique lors des tentatives d'estimation avec des données réelles, tel qu'un manque d'unicité des solutions (HOLMBERG 1982, HOLMBERG et RANTA 1982), la non convergence vers l'optimum du critère (SIMKINS et ALEXANDER 1985, COMBY et al. 1988, 1989, LEDERMAN et al. 1976, HOLMBERG 1982), une trop forte sensibilité aux estimations initiales des paramètres conduisant à estimations irréalistes (YAMANO et TAKAHASHI 1986, LEDERMAN et al. 1976, HOLMBERG 1982), des régions de confiance trop larges pour la valeur des paramètres (ROBINSON et TIEDJE 1983, ROCHET et FLANDROIS 1989, NIHTILA et VIRKKUNEN 1977, HOLMBERG et al. 1980), et une forte corrélation entre les paramètres (CORMAN et al. 1986, ROCHET et FLANDROIS 1989, BRAUN et BERTHOUEX 1970). L'étude de l'identifiabilité théorique d'un modèle ne saurait suffire à elle seule à légitimer son utilisation.

3.2.3 IDENTIFIABILITE PRATIQUE

La démarche consiste à fabriquer des données artificielles qui sont utilisées ensuite pour estimer la valeur des paramètres du modèle. Pour fabriquer un jeu de données réalistes, le modèle est simulé en lui surimposant des perturbations aléatoires. Les estimations de la valeur des paramètres sont comparées à celles utilisées lors de la simulation. L'obtention de valeurs raisonnablement voisines rassure quant à l'identifiabilité pratique des paramètres du modèle.

Mise à part la difficulté dans la définition d'une règle permettant de décider si les estimations en retour sont suffisamment proches des valeurs utilisées lors de la simulation, il faut souligner que la démarche n'a de sens que par référence à une situation expérimentale parfaitement définie, sans quoi les conclusions de l'étude seront sans intérêt. Voudrait-on montrer qu'un modèle est identifiable en pratique ? Il suffirait de multiplier les points expérimentaux, de rendre la variance du modèle d'erreur infime et de choisir des valeurs des paramètres telles que les extrema des fonctions de sensibilité soient bien résolus. Voudrait-on au contraire montrer que ce même modèle n'est pas identifiable en pratique ? Il conviendrait de réduire la taille de l'échantillon, d'augmenter la variance du modèle d'erreur, de choisir des valeurs pour les paramètres qui rendent colinéaires les fonctions de sensibilité.

De par la nature même de cette méthode, les conclusions obtenues ont une faible portée. Si l'on se réfère au cas particulier de l'estimation des paramètres du modèle de Monod à partir de données issues de cultures en cuvée, l'approche par simulation/estimation a été utilisée par de nombreux auteurs (LEDERMAN et al. 1976, ABORHEY et WILLIAMSON 1978, NIHTILA et VIRKKUNEN 1977, HOLMBERG et SIEVANEN 1980, HOLMBERG 1982, ROBINSON et TIEDJE 1983, ONG 1983, MUNACK 1985, VIALAS et al. 1985). Il est difficile de tirer un enseignement général

de ces travaux car les conditions de simulations différant d'un auteur à l'autre, les conclusions quant à l'identifiabilité se répartissent en un gradient continu allant du pessimisme le plus noir (HOLMBERG 1982) à l'optimisme de bon aloi (LEDERMAN et al. 1976). La plus grande difficulté rapportée généralement dans l'estimation de K_s par rapport à μ_{max} ne montre pas que ce paramètre soit intrinsèquement plus difficile à estimer, mais simplement que dans les conditions expérimentales usuelles on n'échantillonne pas de façon préférentielle au niveau des extrema des fonctions de sensibilité (VIALAS et al. 1985), c'est à dire en fin de croissance pour le paramètre K_s.

3.2.4 ANALYSE DES FORMES DEGENEREES

3.2.4.1 Principe

Il existe quelques règles empiriques (BATES et WATTS 1988, SEBER et WILD 1989) permettant de rendre un premier diagnostique lorsque l'on rencontre des problèmes avec les méthodes itératives utilisées pour estimer les paramètres. Si la somme des carrés des écarts entre les points expérimentaux et théoriques reste désespérément élevée au cours des itérations, on évoquera la présence d'un minimum local. Si au cours des itérations un des paramètres tend vers une valeur extrême on réexaminera le modèle pour voir si cette valeur ne correspond pas à un modèle plus simple, comportant moins de paramètres. De même, si deux paramètres tendent à varier simultanément on évoquera une surparamétrisation du modèle où ces deux paramètres se recombineraient pour n'en former qu'un seul.

Il paraît intéressant, avant toute tentative d'estimation, de prendre les devants en examinant le comportement du modèle au limites, c'est à dire pour des valeurs extrêmes des paramètres. Nous obtenons ainsi des renseignements sur le type de données qui poseront à coup sûr des problèmes lors de l'estimation. Nous considérons ici cette approche comme l'intermédiaire entre celle de l'identifiabilité théorique et celle de l'identifiabilité pratique car nous souhaitons la voir illustrée par des exemples concrets pour montrer que les problèmes soulevés sont réels.

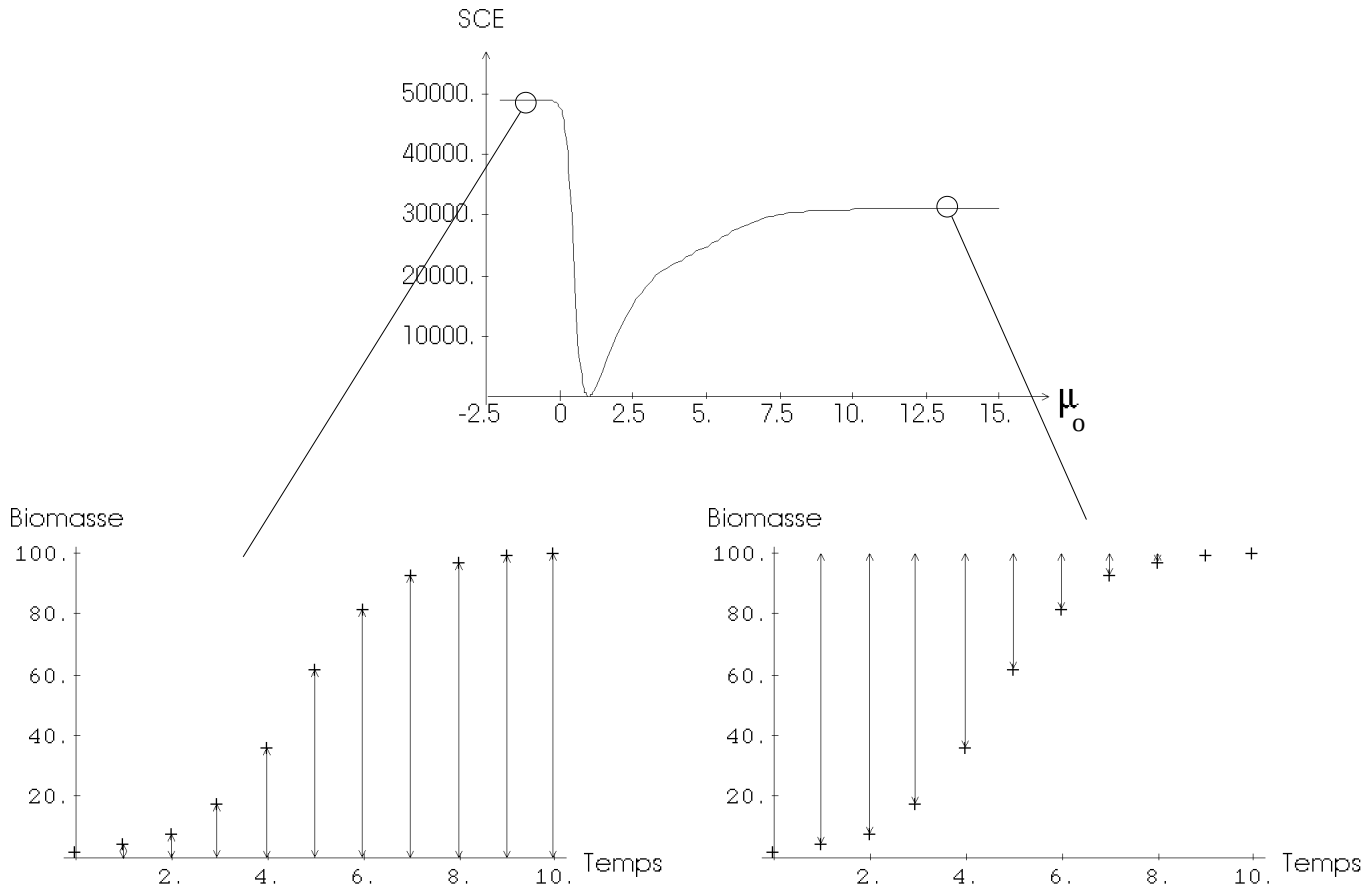
Fig. 3.2

UN EXEMPLE DE MESA

Les données utilisées ici pour illustrer le phénomène de mesa sont données dans l'annexe 6.4. Elles consistent en une simulation bruitée d'un modèle de croissance possédant une asymptote horizontale supérieure, le modèle logistique.

La somme des carrés des écarts (SCE) entre les points "expérimentaux" et les points théoriques (selon le modèle logistique) est représentée ci-dessous en fonction de la valeur du taux de croissance μ_o, les deux autres paramètres étant fixés à la valeur utilisée pendant la simulation (xo=1 et xm=100).

On remarque la présence de deux mesas, pour les faibles et fortes valeurs du taux de croissance μ_o. Les situations correspondantes sont illustrées dans chaque cas. Quand le taux de croissance est trop fort, tous les points théoriques -sauf le premier- tendent vers la valeur de la biomasse maximale. Quand le taux de croissance est trop faible, tous les points théoriques -sauf le premier- tendent vers une biomasse nulle.



Taux de croissance μ_o trop faible

Taux de croissance μ_o trop fort

3.2.4. Valeurs critiques du paramètre μ_{max}

Grandes valeurs du paramètre μ_{max}

Quand le paramètre μ_{max} tend vers plus l'infini, la croissance est si rapide que seules les valeurs de la biomasse initiale x_o et de la biomasse finale x_m seront disponibles puisque il est impossible en pratique de suivre la croissance à des intervalles de temps infinitésimaux. Cette situation caricaturale n'est pas rencontrée en pratique, mais il est vrai que lorsque l'on suit la croissance avec un pas temporel fixe, le nombre de points disponibles pour les souches à croissance rapide devient plus petit, et par voie de conséquence les intervalles de confiance pour la valeur des paramètres plus étendus.

Petites valeurs du paramètre μ_{max}

Quand le paramètre μ_{max} tend vers zéro, la croissance devient si lente que l'on obtient pas en un temps fini suffisamment de points pour estimer la valeur des paramètres. Ce cas de figure est plus habituel, il est d'autant plus fréquent que l'on est moins préparé à suivre la croissance longtemps.

Les mesas

Dans les deux cas précédents, comme la non identifiabilité du modèle apparaît clairement au vu de la pauvreté des données, il n'y aura pas de tentative d'estimation des paramètres. Il n'est donc pas nécessaire d'insister plus sur ces cas dégénérés sauf pour faire la remarque suivante, valable en fait pour tous les modèles de croissance ayant une asymptote horizontale supérieure.

Quand le taux de croissance maximum est trop grand, la somme des carrés des écarts entre les valeurs observées et théoriques tend asymptotiquement vers une valeur maximale, donnant au critère l'aspect d'une mesa (cf. Fig. 3.2). Pour des valeurs suffisamment fortes, le critère devient rigoureusement plat à cause des imprécisions numériques, ce qui empêche la convergence des algorithmes utilisant le gradient. Les mesas peuvent être considérées comme un exemple de minimum local, dégénéré, du critère.

3.2.4.3 Valeurs critiques du paramètre K_s

Grandes valeurs du paramètre K_s

Quand le paramètre K_s est grand, la courbe de croissance tend vers le classique modèle logistique (VERHULST 1845,1847),

$$\lim_{K_s \to +\infty} \left[\frac{dx}{dt} = x\,\mu_{max} \frac{x_m - x}{K_s + x_m - x} \right] = \left[\frac{dx}{dt} = \frac{x_m \mu_{max}}{K_s}\, x \left(1 - \frac{x}{x_m}\right) \right] \quad \text{[III.13]},$$

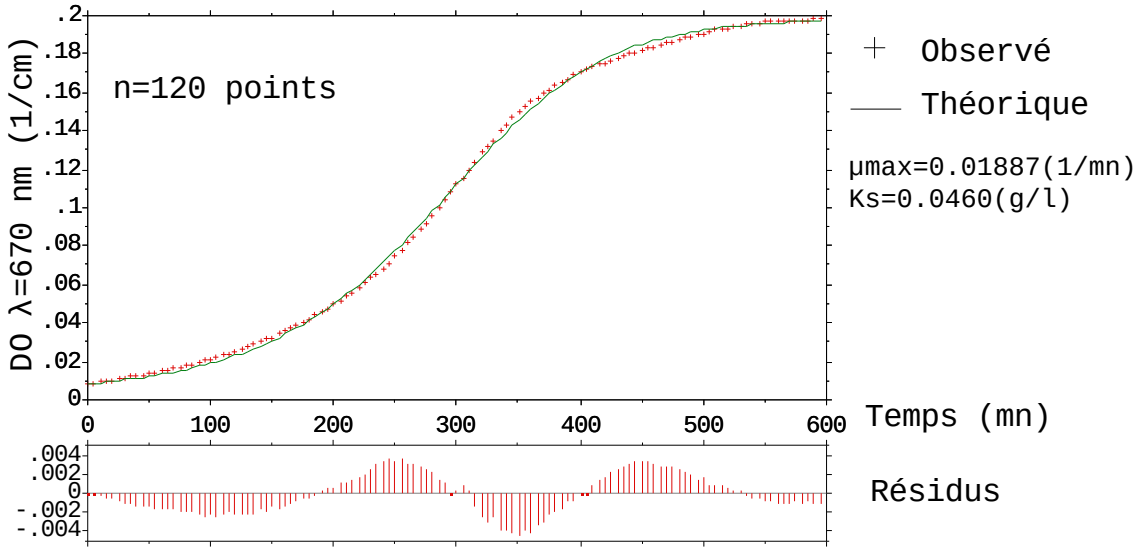
de sorte qu'une description plus simple de la croissance est donnée par :

$$x(t) = \frac{x_m}{x_m - x_o + x_o e^{\mu_o t}}\, x_o\, e^{\mu_o t}, \quad \text{avec } \mu_o = \frac{x_m \mu_{max}}{K_s} \qquad \text{[III.14]}.$$

Le modèle de Monod se réduit dans ce cas au modèle logistique avec les deux paramètres μ_{max} et K_s recombinés dans le paramètre μ_o seul. Donc, si les données expérimentales ont l'aspect d'une courbe de croissance logistique, avec un point d'inflexion au centre de symétrie de la courbe, le modèle de Monod sera sur-paramétré.

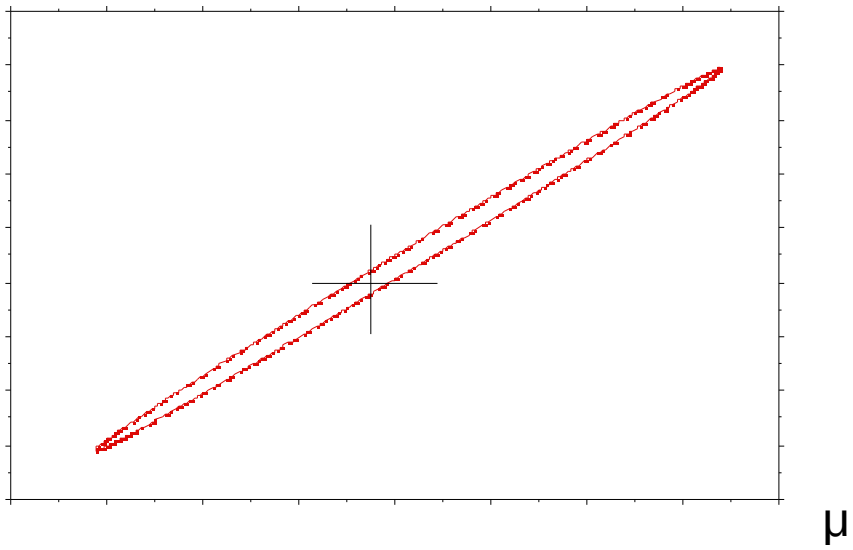
Il faut distinguer deux raisons pour lesquelles les points expérimentaux peuvent suivre une courbe de croissance logistique : i) soit le modèle de Monod n'est pas le modèle de croissance suivi par la souche, ii) soit le modèle de Monod est le bon modèle mais la valeur du paramètre K_s est grande par rapport à la valeur de $x_m - x_o$. Dans ce dernier cas, cela peut signifier soit que la concentration initiale en substrat est faible (milieu trop dilué) soit que la biomasse initiale est trop grande (inoculum trop lourd).

Les données utilisées pour illustrer le cas de la dégénérescence logistique ne sont pas une simulation, mais un exemple réel concernant la croissance d'une souche de *Staphylococcus aureus* dans un milieu où le pyruvate est le substrat limitant (annexe 6.7). La concentration initiale est faible (0.05 g/l) de sorte que sans surprise une courbe de croissance de type logistique est obtenue :



La valeur minimale du critère des moindres carrés ordinaires (8.76 10^{-4} cm^{-2}) est obtenue pour μ_{max} =1.887 10^{-2} mn^{-1} et K_s = 4.60 10^{-2} $g.l^{-1}$. Le modèle de Monod suit de façon assez fidèle les données, et si l'on faisait abstraction de l'autocorrélation (inacceptable ici) entre les résidus, rien ne semble anormal jusqu'à ce stade.

L'examen de la région de confiance (III.32 avec α=0.05) pour la valeur des paramètres,

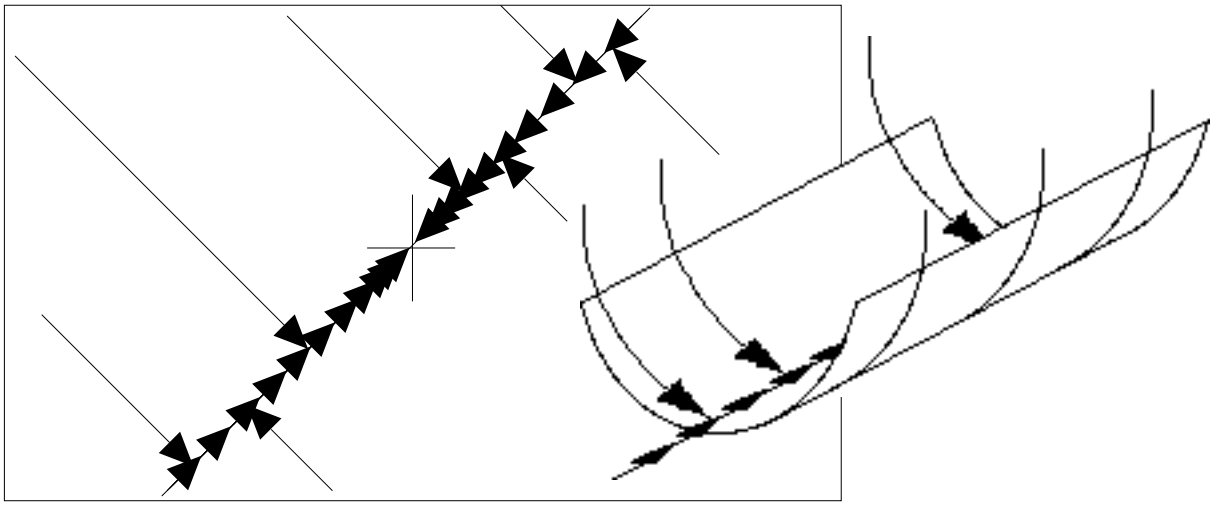


met en évidence une très forte corrélation structurelle positive : une augmentation de la valeur du paramètre μ_{max} peut être compensée, au moins partiellement, par une augmentation de la valeur du paramètre K_s. Le minimum de la somme des carrés des écarts repose dans le sillon d'une vallée encaissée, extrêmement étroite. Si on se déplace le long de ce sillon, la valeur du critère ne change quasiment pas, et le rapport des deux paramètres reste constant, comme on s'y attendait d'après l'équation [III.14]. Notons au passage que le minimum n'est pas le centre géométrique de la région de confiance : l'étendue de la zone en haut et à droite de l'optimum est plus étendue de 27% que celle qui est en bas et à gauche.

Les valeurs individuelles des paramètres ne peuvent pas être estimées de façon satisfaisante : l'amplitude relative des intervalles de confiance pour la valeur des paramètres montre que nous n'obtenons que de bien piètres estimations pour un jeu de données de 120 points.

μ_{max} (10^{-2} mn^{-1})				K_s (10^{-2} $g.l^{-1}$)			
opt	inf	sup	Δ%	opt	inf	sup	Δ%
1.887	1.743	2.070	17.3	4.60	3.97	5.40	31.1

En utilisant un algorithme de type Gauss-Marquardt, la progression vers l'optimum du critère est laborieuse parce que le sillon de la vallée capte puis confine la recherche. L'évolution du critère au fil des itérations est typique : un départ des plus prometteurs (une forte amélioration du critère) est suivi par une longue suite d'itérations pendant laquelle le critère n'est presque plus amélioré.



Ce qui se passe est relativement simple à expliquer : l'algorithme de Gauss-Marquardt qui au départ a un comportement proche de l'algorithme de la plus forte pente dégénère rapidement au fil des itérations (à cause de la méthode de transition ad hoc utilisée) en une méthode de Gauss-Newton dont la vitesse de convergence vers l'optimum est d'autant plus mauvaise que les paramètres sont fortement corrélés (cf. p 623 SEBER et WILD 1989). Il n'existe vraisemblablement pas d'algorithme "miracle" dans la cas présent : le problème est intrinsèquement mal conditionné dès le départ.

Le cas dégénéré de type logistique est à souligner à deux titres. D'une part l'ajustement du modèle aux données expérimentales semble très correct de sorte que la surparamétrisation, et donc l'inadéquation du modèle, n'est pas détectable par ce seul examen. D'autre part, des problèmes d'estimation des paramètres sont à prévoir à cause de la lenteur et de l'arrêt prématuré des algorithmes itératifs.

Petites valeurs du paramètre K_s

Quand le paramètre K_s devient petit, le taux de croissance tend à rester de plus en plus longtemps au voisinage de sa valeur maximale μ_{max},

$$\lim_{K_S \to 0+} \left[\frac{dx}{dt} = x\,\mu_{max}\,\frac{x_m - x}{K_S + x_m - x}\right] = \left[\frac{dx}{dt} = \mu_{max}\,x\right] \qquad \text{[III.15]},$$

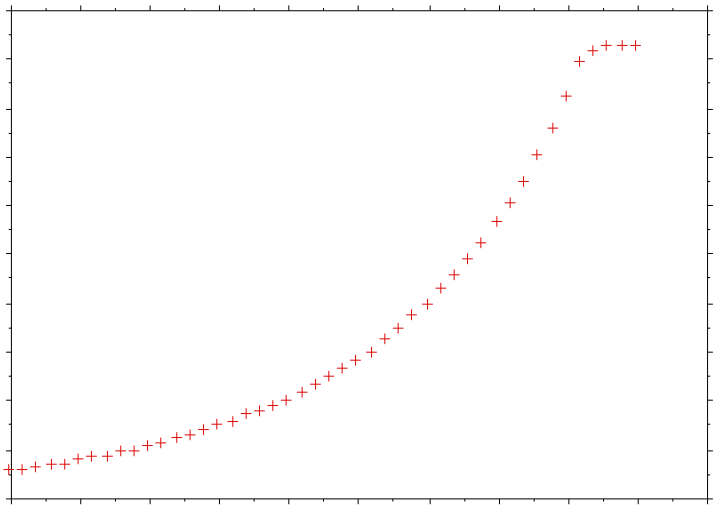
si bien qu'une description plus simple de la croissance est donnée par une exponentielle, tronquée pour ne pas dépasser la biomasse maximale :

$$x(t) = \mathrm{Inf}\ \{\ x_o\, e^{\mu_{max} t}\ ,\ x_m\ \} \qquad \text{[III.16]}.$$

La conséquence principale des petites valeurs du paramètres K_S est le caractère abrupt de la fin de la croissance : le ralentissement du taux de croissance est très rapide conduisant à une cassure dans la courbe. Ceci peut être la source de problèmes incontournables lors de l'intégration numérique du modèle : avec une valeur trop faible pour K_S, l'intégration numérique peut échouer et rendre ainsi les derniers points théoriques aberrants. La somme des carrés des écarts devient alors anormalement élevée, empêchant les algorithmes itératifs de converger vers le minimum.

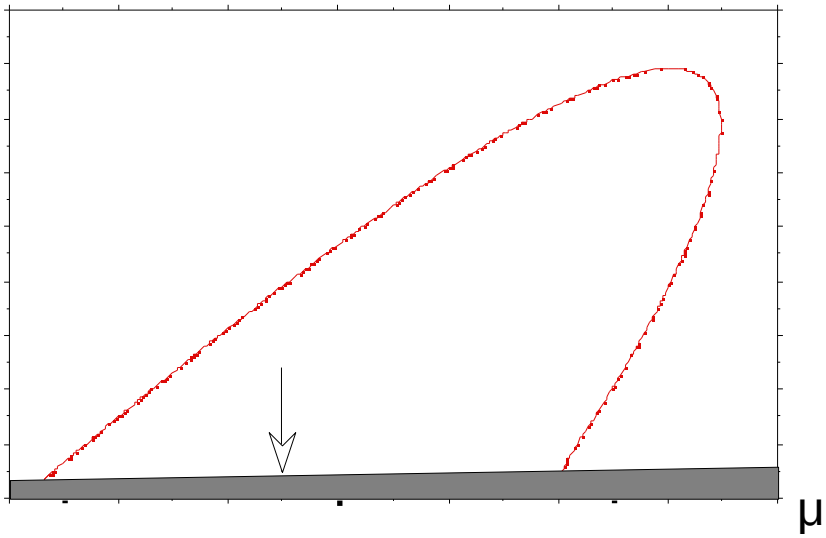
Comme précédemment, les points expérimentaux conduisant à une telle situation se rencontrent dans deux cas de figure i) La croissance se fait bien selon le modèle de Monod mais la valeur du paramètre K_s est petite par rapport à la valeur de x_m-x_o. Ceci signifie que la concentration initiale en substrat est forte par rapport à K_s. Une forte concentration en biomasse est alors présente quand le substrat devient limitant de sorte que son épuisement est très rapide. ii) Le modèle de Monod n'est pas le modèle de croissance suivi par la souche, et pour une autre raison la croissance se termine brutalement. Ce cas est fréquemment rencontré à cause du phénomène de lyse-éclair qui se traduit par l'établissement d'un régime de forte mortalité transitoire dès l'épuisement du substrat (MONOD 1942b, ALLEN 1950, HADJIPETROU et STOUTHAMER 1963, SHOCKMAN et al. 1961).

Nous allons illustrer le cas de la dégénérescence exponentielle sur un exemple concret. Les données ont été obtenues en suivant la croissance de *Salmonella typhimurium* dans un milieu où le glucose était le facteur limitant (annexe 6.8). La concentration initiale en glucose était relativement élevée (0.25 gl^{-1}) de sorte que le point d'inflexion est tardif, au voisinage de la biomasse maximale.



La courbure finale de la courbe ne semble pas être excessive, mais nous sommes trompés par le lissage visuel que l'œil fait naturellement. Un examen plus attentif des données révèle que le cinquième point en partant de la fin est anormalement haut, ce qui va nécessiter des valeurs du paramètre K_s excessivement faibles pour “tirer” la courbe théorique au maximum vers le haut.

Avec une recherche directe dans le plan (μ_m,K_s) le minimum du critère des moindres carrés ordinaires n’a pas pu être localisé exactement à cause des problèmes d’intégration numérique (routine DVPRK de la bibliothèque d'IMSL). La zone grisée ci-dessous représente la région pour laquelle ces problèmes d’intégration ont été rencontrés. La plus petite valeur calculable (indiquée par une flèche) a été utilisée pour construire une pseudo-région de confiance (α=0.05). Cette valeur est de 3.1 10^{-5} cm^{-2} pour μ_{max} = 1.359 10^{-2} mn^{-1} et K_s = 2.857 10^{-5} $g.l^{-1}$. La région de confiance est légèrement surestimée car nous ne connaissons pas la vraie valeur du minimum, elle ne doit cependant pas trop en différer car la somme des carrés des résidus varie peu dans cette région.



L’examen de cette pseudo-région de confiance indique clairement que le paramètre K_S devrait être considéré comme étant nul : une description plus simple de la courbe de croissance est donnée par le modèle exponentiel. Le paramètre K_S est en tout état de cause inférieur à 0.008 $g.l^{-1}$ de glucose, à comparer avec la concentration initiale de 0.25 $g.l^{-1}$.

Le cas dégénéré de type exponentiel est important : quand le point d’inflexion de la courbe de croissance est trop haut, des difficultés dans l’estimation des paramètres sont rencontrées, en particulier à cause des problèmes d’intégration numérique du modèle.

3.2.4.4 Conclusion sur l'analyse des cas dégénérés

Nous avons obtenu par l’examen des cas dégénérés du modèle de Monod des règles qualitatives signalant des difficultés potentielles lors de l'estimation des paramètres. En résumé, quand le point d'inflexion de la courbe expérimentale est trop bas, des difficultés seront rencontrées à cause de la surparamétrisation du modèle (dégénérescence logistique). Il est alors possible d'essayer d'augmenter la concentration initiale en substrat pour déplacer le point d'inflexion vers le haut. Mais il ne faut cependant pas le remonter trop haut car il ne reste alors plus suffisamment de points pour estimer K_s correctement (dégénérescence exponentielle).

Les conclusions que l'on tire de ce type d'approche sont directement utilisables en pratique (si les données ont une structure de ce type alors il faut s'attendre à rencontrer ce type de problèmes). Elles sont cependant moins précises, car non quantifiées, que celles que l'on tire d'une étude avec des données artificielles. Il s'agit d'un compromis entre la généralité des conclusions et leur valeur pratique.

3.3 PARAMETRISATION

3.3.1 OBJECTIFS

Le choix de la paramétrisation d'un modèle peut résulter soit de la volonté de mettre en évidence la signification des paramètres, soit de faciliter leur estimation. Ces deux options ne sont pas forcément compatibles.

3.3.2 PARAMETRISATION BIOLOGIQUE

Le modèle de Monod ne comportant que deux paramètres, les paramétrisations envisageables sont peu nombreuses. La paramétrisation qui est employée classiquement,

$$\mu(s) = \frac{\mu_{max}\, s}{K_s + s} \qquad \text{[III.17]},$$

consiste à choisir des paramètres qui contrôlent la position des asymptotes. Nous avons vu dans le chapitre précédent que le rapport proposé par HEALEY (1980),

$$H_e = \frac{\mu_{max}}{K_s} \qquad \text{[III.18]},$$

semble mieux caractériser l'affinité des bactéries pour le substrat que ne le fait le paramètre K_s seul. La mise en évidence de ce rapport nous conduit à la reparamétrisation suivante du modèle Monod :

$$\mu(s) = \frac{\mu_{max}\, s}{\frac{\mu_{max}}{H_e} + s} \qquad \text{[III.19]}.$$

Le choix d'une paramétrisation sur des critères de signification biologique étant purement subjectif, on ne peut pas définir de critère choix objectif. L'effet le plus visible d'une reparamétrisation est de changer la morphologie des régions de confiance pour la valeur des paramètres (cf. Fig. 3.3). Dans la suite nous retiendrons la paramétrisation classique [III.17], car nous voulons avant toute chose savoir si le paramètre K_s augmente avec le paramètre μ_{max}

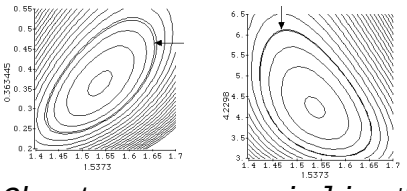
3.3.4 PARAMETRISATION UTILITAIRE

Le choix d'une paramétrisation utilitaire résulte de diverses considérations visant par exemple à restreindre l'espace des paramètres. Pour les deux paramétrisations précédentes du modèle de Monod on peut se restreindre au cadrant positif avec les paramétrisations,

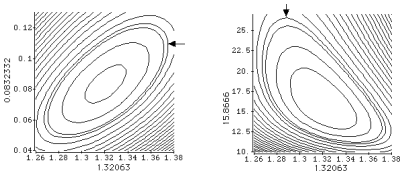
Fig. 3.3

EFFET D'UNE REPARAMETRISATION SUR LES REGIONS DE CONFIANCE

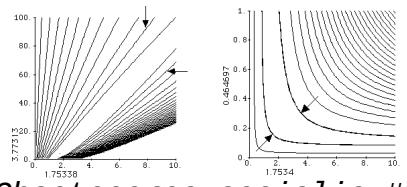
Effet du passage de la paramétrisation (III.17) à la paramétrisation (III.19) du modèle de Monod. Les valeurs numériques utilisées ici sont celles du jeu DIATOM/P donné en annexe. Pour chaque représentation, la flèche indique l'isohypse délimitant la région de confiance (α=0.05) pour la valeur des paramètres.



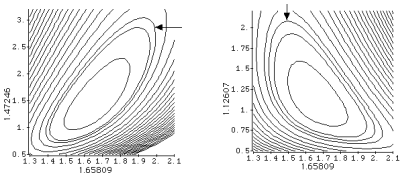
Chaetoceros socialis #1



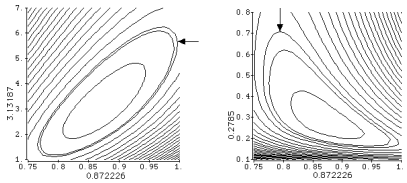
Chaetoceros socialis #2



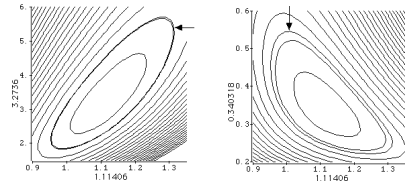
Chaetoceros socialis #3



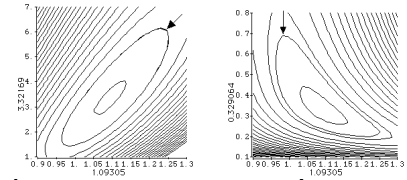
Chaetoceros socialis #4



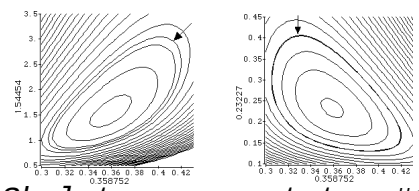
Chaetoceros curvisetus #1



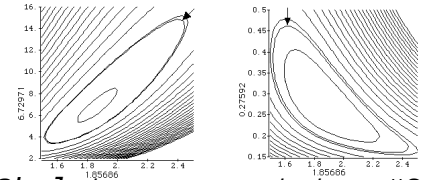
Chaetoceros curvisetus #2



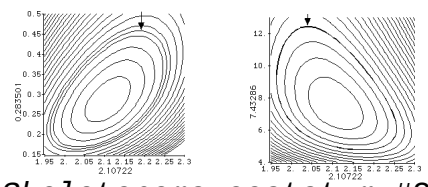
Chaetoceros curvisetus #3



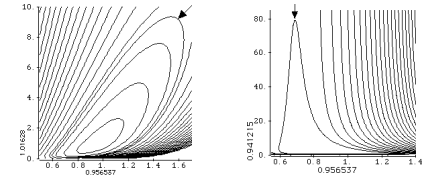
Skeletonema costatum #1



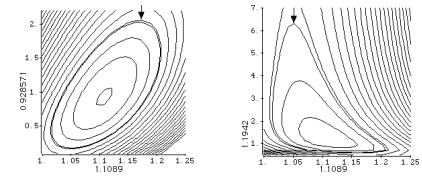
Skeletonema costatum #2



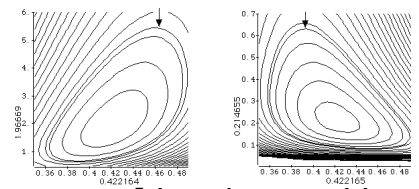
Skeletonema costatum #3



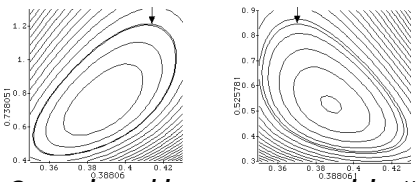
Skeletonema costatum #4



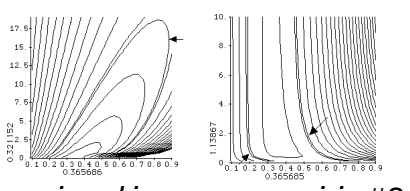
Cerataulina bergonii #1



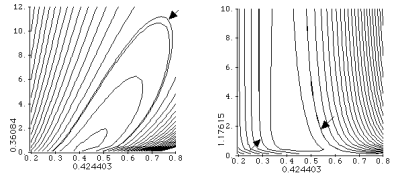
Cerataulina bergonii #2



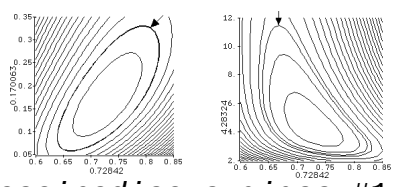
Coscinodiscus granii #1



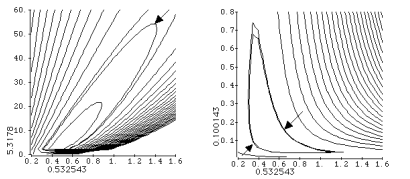
Coscinodiscus granii #2



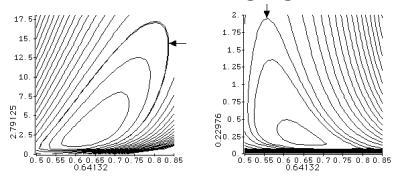
Coscinodiscus granii #3



Coscinodiscus gigas #1



Coscinodiscus gigas #2



Ditylum brighwellii #1

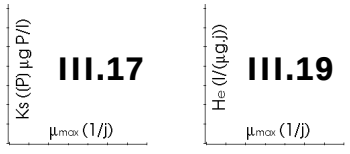
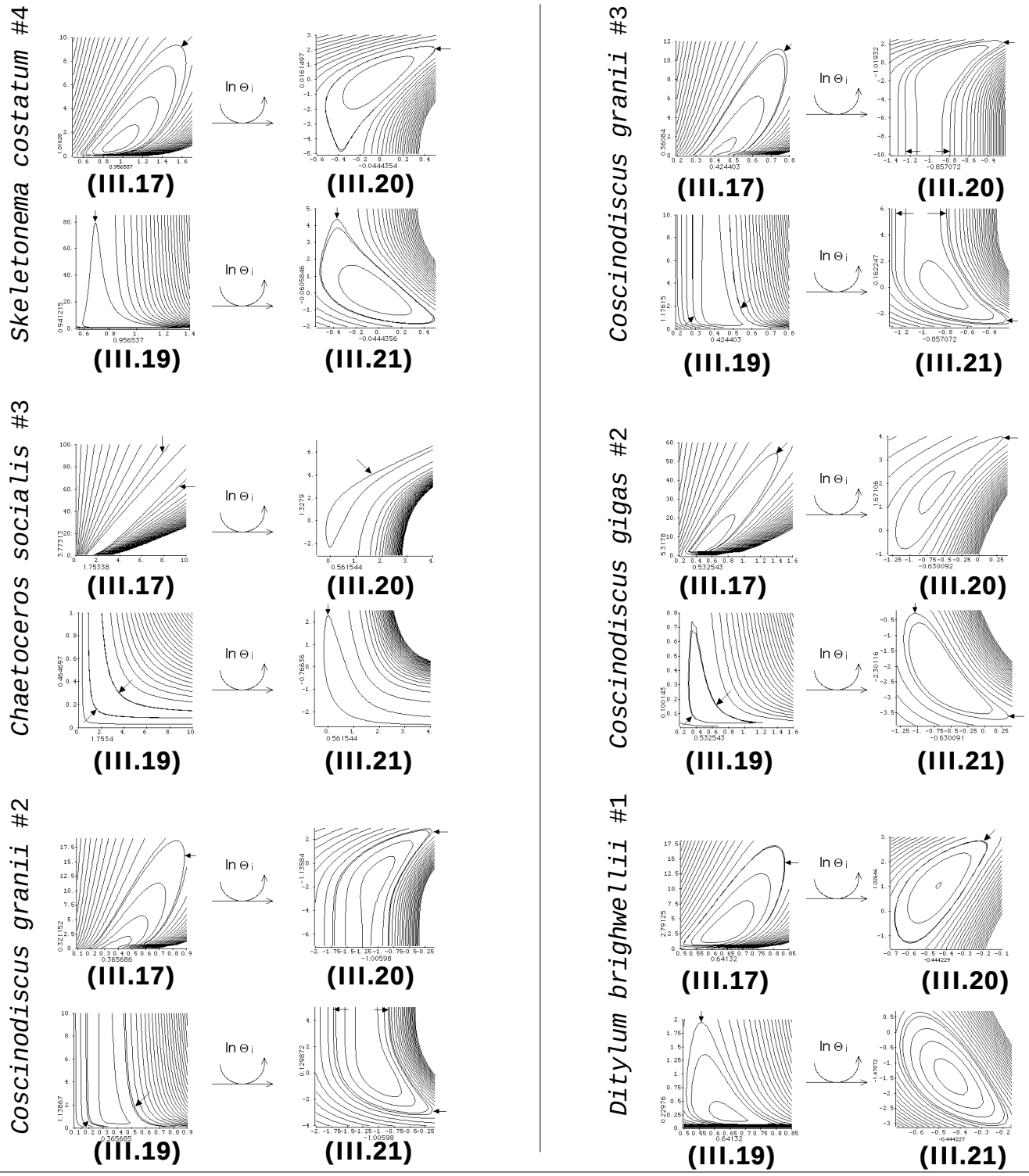


Fig. 3.4

REPARAMETRISATION UTILITAIRE

Quand les régions de confiance pour la valeur des paramètres d'un modèle tendent à devenir très étendues, une reparamétrisation utile consite à travailler avec les logarithmes des paramètres. Dans les exemples suivants (annexe 6.1) les régions de confiance pour la valeur des paramètres du modèle de Monod sont mal définies avec les paramétrisations directes (III.17) et (III.19). En travaillant avec le logarithme des paramètres, c'est à dire avec les paramétrisations (III.20) et (III.21) respectivement, il est plus facile de déterminer si les régions de confiance sont ouvertes (e.g. *Coscinodiscus granii* #3) ou fermées (e.g *Skeletonema costatum* #4).



$$\begin{cases} \Theta_1 = \ln \mu_{max} \\ \Theta_2 = \ln K_s \\ \mu(s) = \dfrac{e^{\Theta_1}\, s}{e^{\Theta_2} + s} \end{cases} \qquad \text{[III.20]},$$

et

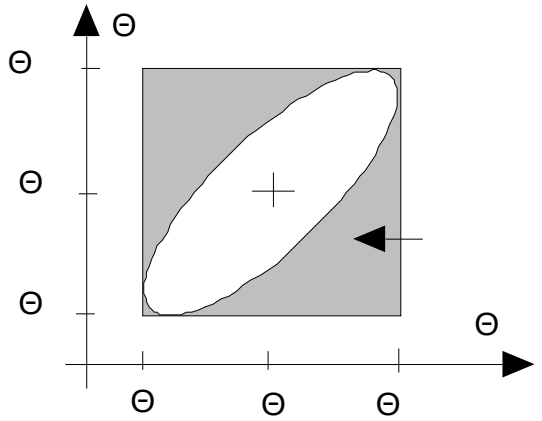
$$\begin{cases} \Theta_1 = \ln \mu_{max} \\ \Theta_2 = \ln H_e \\ \mu(s) = \dfrac{e^{\Theta_1}\, s}{e^{(\Theta_1 - \Theta_2)} + s} \end{cases} \qquad \text{[III.21]}.$$

Mais on peut aussi chercher à diminuer le temps de convergence en essayant de découpler au maximum l'effet de chaque paramètre, ou encore utiliser le logarithme des paramètres[1] simplement pour faciliter l'examen des régions de confiance (cf. Fig. 3.4).

Si on s'en tient au résultat final, il semble intéressant d'utiliser une paramétrisation telle que la précision sur les estimations des paramètres soit aussi grande que possible, c'est à dire que les intervalles de confiance pour la valeur des paramètres soient, en valeur relative, aussi faible que possible. Comme il faut tenir compte de la précision pour tous les paramètres, nous pouvons utiliser de façon empirique l'indice V suivant,

$$V = \prod_{i=1}^{p} \frac{\Theta_i^{sup} - \Theta_i^{inf}}{\hat{\Theta}_i} \qquad \text{[III.22]},$$

où $\hat{\Theta}_i$ représente la valeur estimée du $i^{ème}$ paramètre, Θ_i^{sup} et Θ_i^{inf} les bornes supérieures et inférieures de l'intervalle de confiance qui lui sont associées.



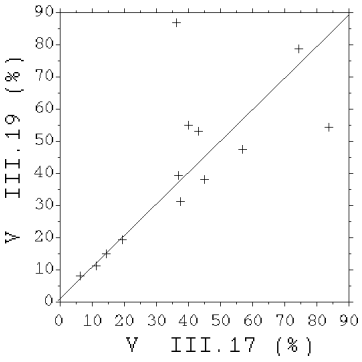
Graphiquement, cet indice V est en fait une mesure a-dimensionnelle du volume de l'hypercube dans lequel s'inscrit la région de confiance pour la valeur des paramètres. Une paramétrisation conduisant à une forte corrélation entre les paramètres sera donc pénalisée par cet indice.

[1] De façon pragmatique, la nécessité de recourir à une échelle logarithmique pour représenter les régions de confiance pour la valeur des paramètres est l'indice d'une mauvaise paramétrisation du modèle.

Sur un jeu de données particulier (annexe 6.1), les valeurs suivantes de l'indice V sont obtenues pour les paramétrisations [III.17] et [III.19] :

	μ_{max} (j^{-1})				K_s ([P]µg.l^{-1})				H_e($l.\mu g^{-1}.j^{-1}$)				V(%)	
	opt	inf	sup	Δ%	opt	inf	sup	Δ%	opt	inf	sup	Δ%	III.17	III.19
C. *socialis* #1	1.537	1.42	1.65	15.0	0.363	0.242	0.522	77.1	4.23	3.06	6.11	72.1	**11.6**	10.8
C. *socialis* #2	1.32	1.27	1.37	7.6	0.0832	0.0485	0.123	89.5	15.86	11.0	26.6	98.4	6.8	**7.5**
C. *socialis* #4	1.658	1.39	1.99	36.2	1.47	0.719	3.05	158.6	1.126	0.623	2.08	129.4	**57.4**	46.8
C. *curvisetus* #1	0.872	0.765	0.997	26.6	3.13	1.12	6.24	163.6	0.2785	0.158	0.707	197.1	43.5	**52.4**
C. *curvisetus* #2	1.114	0.953	1.31	32.0	3.274	1.83	5.71	118.5	0.340	0.222	0.546	95.3	**37.9**	30.5
C. *curvisetus* #3	1.093	0.965	1.25	26.1	3.32	1.42	6.17	143.1	0.329	0.199	0.689	148.9	37.3	**38.9**
S. *costatum* #1	0.359	0.306	0.42	31.8	1.544	0.81	3.04	144.4	0.232	0.13	0.405	118.5	**45.9**	37.7
S. *costatum* #2	1.857	1.52	2.44	49.5	6.73	3.45	14.9	170.1	0.276	0.161	0.462	109.1	**84.2**	54.0
S. *costatum* #3	2.107	1.96	2.26	14.2	0.2835	0.163	0.459	104.4	7.43	4.77	12.4	102.7	**14.8**	14.6
C. *bergonii* #1	1.109	1.01	1.21	18.0	0.929	0.168	2.06	203.7	1.194	0.591	6.32	479.8	36.7	**86.4**
C. *bergonii* #2	0.4222	0.36	0.489	30.6	1.967	0.641	5.45	244.5	0.2147	0.0843	0.632	255.1	74.8	**78.1**
C. *granii* #1	0.388	0.352	0.427	19.3	0.738	0.434	1.21	105.1	0.5258	0.338	0.846	96.6	**20.3**	18.6
C. *gigas* #1	0.728	0.639	0.824	25.4	0.17	0.0579	0.331	160.6	4.28	2.36	11.5	213.6	40.8	**54.3**

Comme on peut le voir ici, la paramétrisation qui conduit à une meilleure précision globale dépend du jeu de données utilisé : il y a des jeux de données pour lesquels l'équation [III.17] est la meilleure paramétrisation, et réciproquement des jeux de données pour lesquels l'équation [III.19] donne de meilleurs résultats. On ne peut donc pas décider a priori de privilégier l'une des deux paramétrisations



3.4 CHOIX D'UN MODELE D'ERREUR

3.4.1 LE MODELE D'ERREUR HISTORIQUE

Le modèle d'erreur le plus couramment employé pour ajuster les courbes de croissance consiste à ajouter un terme stochastique ε à la partie déterministe du modèle de croissance,

$$x = f(x,t,\Theta) + \varepsilon \qquad \text{[III.23]},$$

ce qui revient à dire que la variable observée, la biomasse, est égale au modèle théorique plus une erreur aléatoire distribuée par exemple selon une loi normale de moyenne nulle et de variance constante.

Pour pouvoir faire des inférences statistiques valides, les erreurs doivent être distribuées de façon indépendante deux à deux. Pour les modèles de croissance ceci devient vite irréaliste dès que le nombre de points expérimentaux augmente de sorte que x_t et $x_{t+\Delta t}$ sont suffisamment proches l'un de l'autre pour provoquer l'apparition de longues suites de résidus de même signe. Ce fait est particulièrement frappant dans nos conditions expérimentales (CORMAN et al. 1986) où une mesure est effectuée toutes les 5 mn, mais reste vrai pour les courbes de croissance humaines ou d'arbres pour peu que l'échantillonnage temporel soit suffisamment fin.

Ce phénomène est particulièrement important parce qu'une des hypothèse utilisée pour construire des intervalles de confiance pour la valeur des paramètres suppose précisément l'indépendance entre les résidus. La non prise en compte d'une telle autocorrélation des résidus peut conduire à une sous estimation grave (e.g. GLASBEY 1980) des intervalles de confiance pour la valeur des paramètres.

3.4.2 MODELE D'ERREUR AVEC FONCTION D'AUTOCORRELATION

Pour neutraliser l'autocorrélation, une des solutions consiste à utiliser une fonction d'autocorrélation Φ, plus ou moins complexe, pour introduire des contraintes entre les résidus,

$$x_i = f(x_i,t,\Theta) + Z_i$$
$$Z_i = \varepsilon_i + \Phi(Z_{i-1}) \qquad \text{[III.24]}.$$

D'un point de vue biologique, l'utilisation d'une fonction d'autocorrélation pour les modèles de croissance ne semble pas très naturel (SEBER et WILD 1989). Ceci signifie par exemple qu'une population bactérienne garde le souvenir de l'écart qu'elle avait antérieurement à la tendance générale. De plus, l'introduction d'une fonction d'autocorrélation oblige à estimer en plus des paramètres du modèle ceux de la fonction d'autocorrélation, ce qui ne va pas sans introduire une certaine lourdeur.

3.4.3 MODELE D'ERREUR SUR LE TAUX DE CROISSANCE

Une solution alternative, qui semble plus élégante, revient à considérer la croissance comme un processus dans lequel les fluctuations d'origine expérimentale jouent sur l'accroissement relatif de la biomasse, c'est à dire sur le taux de croissance.

$$\frac{dx}{xdt} = g(x,t,\Theta) + \varepsilon \qquad \text{[III.25]}$$

Dans ce cas, même si les erreurs sont distribuées de façon indépendante, les valeurs des résidus pour la variable observée x pourront être corrélées.

Comme en pratique on mesure la biomasse et non pas son taux de croissance, les données sont utilisées pour calculer le taux de croissance instantané μ_i par la pente de la droite joignant les points en coordonnées semi-logarithmique :

$$\mu_i = \frac{\ln x_{t+\Delta t} - \ln x_t}{\Delta t} \qquad \text{[III.26].}$$

3.4.4 UN CAS D'ESPECE : LA TEMPERATURE

Dans le cas du système de mesure que nous avons utilisé, le paramètre expérimental que l'on contrôle vraisemblablement le moins bien est la température. D'après la notice du fabriquant, celle-ci est maintenue dans la plage 35°C ± 0.5°C. Comme d'un autre coté l'effet de la température sur le taux de croissance des populations microbiennes est assez bien documenté, nous allons pouvoir utiliser ces connaissances pour choisir un modèle d'erreur.

L'effet de la température sur le taux de croissance de Escherichia coli est décrit approximativement par un modèle[2] à 4 paramètres,

$$\mu = \mu_{opt}\left[1 - \frac{(T-T_{opt})^2}{(T-T_{opt})^2 + T(T_{max}+T_{min}-T) - T_{max}.T_{min}}\right] \qquad \text{[III.27],}$$

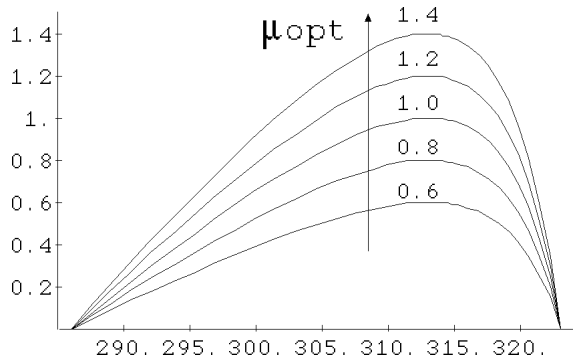
où μ est le taux de croissance, μ_{opt} le taux de croissance à la température optimum T_{opt}, T_{min} la température en deça de laquelle la croissance n'est plus possible, et T_{max} la température de croissance en delà de laquelle la croissance n'est plus possible (cf. Fig. 3.5).

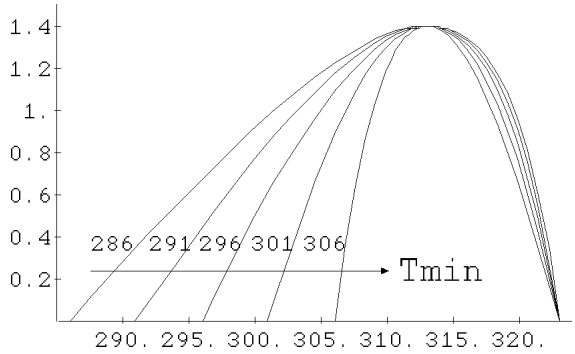
[2] Ce modèle purement descriptif avait été développé à l'origine pour illustrer l'importance de l'effet du choix d'un modèle sur les régions de confiance pour la valeur des paramètres (LOBRY et al. 1991). Ce modèle est loin d'être parfait car il ne peut pas rendre compte de l'inflexion qui souvent observée aux basses températures.

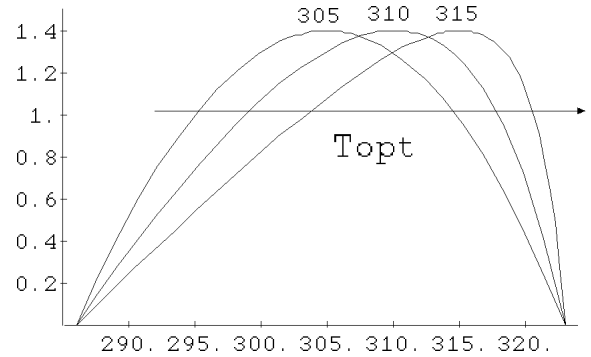
Fig. 3.5

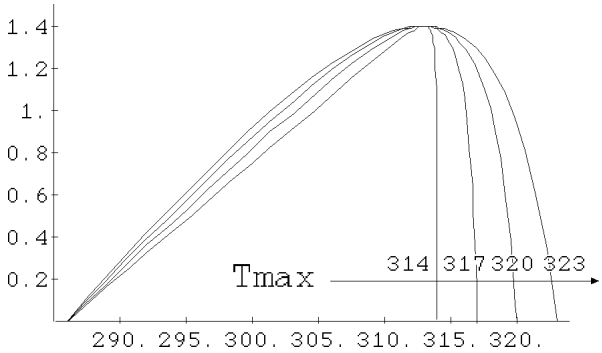
SIMULATION DU MODELE DES TEMPERATURES CARDINALES

L'effet de la température sur le taux de croissance d'une population bactérienne est relativement bien décrit par le modèle des températures cardinales défini par l'équation III.26. Les représentations graphiques suivantes illustrent l'effet de chaque paramètre sur le modèle. La température (K) est représentée en abscisse, et le taux de croissance (1/h) en ordonnée. Les valeurs des paramètres utilisées par défaut correspondent approximativement à celles d'une souche d'*Escherichia coli* : μopt=1.4 1/h, Tmin=286 K, Topt=313 K, Tmax=323 K.

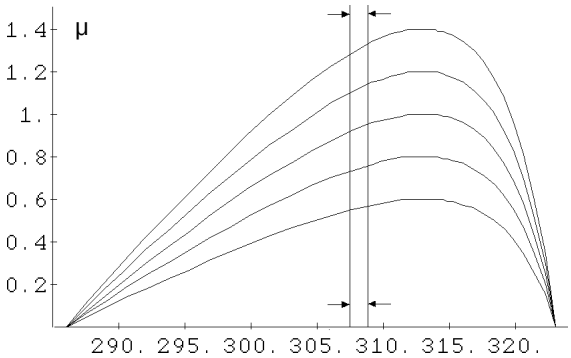








On a représenté ici l'évolution du taux de croissance en fonction de la température pour différentes valeurs de μ_{opt} (0.6, 0.8, 1.0, 1.2 et 1.4 h^{-1}) avec des valeurs des températures cardinales estimées pour Escherichia coli (T_{min}=286 K, T_{opt}=313 K, T_{max}=323 K).



Dans la zone de température sub-optimale indiquée par les deux traits verticaux (307.5-308.5 K = 35.5 ± 0.5 °C), on peut voir que, en première approximation, une fluctuation de la température se répercutera de façon proportionnelle sur le taux de croissance.

3.4.5 LE MODELE D'ERREUR RETENU

De par la connaissance que nous avons de l'effet de la température sur le taux de croissance, il parait raisonnable de choisir un modèle d'erreur relative constante sur le taux de croissance,

$$\frac{dx}{xdt} = \delta g(x,t,\Theta) \qquad \text{[III.28]},$$

où δ est distribué selon une loi de moyenne égale à l'unité. Ce modèle d'erreur multiplicatif est peu aisé à manipuler, mais on peut se ramener facilement à un modèle d'erreur additif en utilisant une transformation logarithmique,

$$\ln \frac{dx}{xdt} = \ln \delta g(x,t,\Theta) = \ln \delta + \ln g(x,t,\Theta) \qquad \text{[III.29]},$$

et en posant $\varepsilon = \ln \delta$ à :

$$\ln \frac{dx}{xdt} = \ln g(x,t,\Theta) + \varepsilon \qquad \text{[III.30]}.$$

Nous retiendrons donc un modèle d'erreur relative constante pour le taux de croissance. Il faudra bien entendu vérifier si ce modèle est compatible avec les données expérimentales. Le choix du modèle d'erreur est important ici parce que nous voulons faire des inférences sur la valeur des paramètres.

3.5 CHOIX D'UN CRITERE D'AJUSTEMENT

Le critère d'ajustement retenu ici, les moindres carrés ordinaires,

$$S(\Theta) = \sum_{i=1}^{n} (\ln \mu_i - \ln g(x_i;t;\Theta))^2 \qquad \text{[III.31]},$$

est celui que l'on utilise le plus couramment. Ce critère est intéressant parce que (sous réserve que le modèle [III.29] représente bien la réalité) si les termes d'erreur sont identiquement indépendamment distribués selon une loi normale de moyenne nulle, on peut faire un certain nombre d'inférences, et en particulier calculer les intervalles de confiance pour la valeur des paramètres du modèle.

3.6 DIMENSIONS ET VALEURS DES PARAMETRES

3.6.1 LE PARAMETRE μ_{max}

Le taux de croissance maximum, μ_{max}, a les dimensions de l'inverse d'un temps (T^{-1}). Ce paramètre doit prendre des valeurs strictement positives car le modèle de Monod est un modèle de croissance. En pratique, les valeurs que nous avons rencontrées sont comprises entre 10^{-3} et 2 h^{-1}.

3.6.2 LE PARAMETRE Ks

Le paramètre K_s a les dimensions d'une concentration (ML^{-3}), et doit donc prendre des valeurs strictement positives pour avoir un sens. Une borne inférieure raisonnable est 10^{-17} µM (une molécule de substrat limitant par litre), il n'y a pas de borne supérieure a priori, encore que la concentration du substrat à la limite de la saturation puisse donner une bonne indication (par exemple dans le cas du glucose dans l'eau 5 10^6 µM). En pratique, les valeurs rencontrées sont comprises entre 10^{-4} et 10^6 µM.

3.7 ESTIMATION DES PARAMETRES

Il n'existe en général pas de méthode directe, c'est à dire une solution analytique qui donnerait immédiatement une estimation des paramètres et leurs intervalles de confiance à partir des données. Ceci implique l'utilisation de méthodes itératives, procédant par approximations successives, présentées dans plusieurs ouvrages (e.g. BATES et WATTS 1988, SEBER et WILD 1989).

Ces méthodes ont besoin pour être initiées d'une première estimation pour la valeur des paramètres. Cette estimation peut être "grossière", mais il est évident que l'on a tout intérêt de se rapprocher le plus possible de la valeur optimale. Dans le cas du modèle de Monod, on peut utiliser en partant des données brutes la méthode proposée par CORMAN et PAVE (1983), ou bien, après calcul des taux de croissance instantanés, à toutes les méthodes de linéarisation développées pour le modèle de Michaelis et Menten, avec en particulier la représentation en double inverse de LINEWEAVER et BURK (1934). Sur un jeu de données particulier, on peut voir que toutes ces méthodes donnent des estimations finalement assez voisines les unes des autres (LOBRY et FLANDROIS 1991) si l'on met en regard l'extrême variabilité de la valeur des paramètres que l'on rencontre dans la nature.

3.8 REGIONS DE CONFIANCE

3.8.1 DEFINITION

Une région de confiance pour la valeur des paramètres avec un risque de première espèce α est définie (BEALE 1960) par l'ensemble des valeurs des paramètres telles que la somme des carrés des résidus n'excède pas un seuil donné,

$$\{ \Theta : S(\Theta) \leq S(\hat{\Theta})(1 + \frac{p}{n-p} F^{\alpha,p}_{n-p})\} \qquad \text{[III.32]},$$

où p est le nombre de paramètres du modèle, n le nombre de points disponibles dans le jeu de données, et $\hat{\Theta}$ le vecteur des valeurs des paramètres tel que le critère soit minimal. Les intervalles de confiance individuels sont déterminés en projetant cette région sur les axes correspondant à chaque paramètre.

Si pour les modèles linéaires la région de confiance est délimitée par la surface d'un ellipsoïde dans R^p , pour les modèles non linéaires, elle peut prendre n'importe quelle forme dans l'espace des paramètres et seule une exploration de cet espace est à même de nous donner une idée de son étendue. Une exploration systématique simple consiste à réaliser un maillage régulier de l'espace des paramètres pour calculer la valeur du critère au niveau de chaque maille. Ceci demande un temps de calcul qui croît, non pas, comme on le voit parfois écrit, de façon exponentielle, mais comme une fonction puissance du nombre de paramètre du modèle. En pratique, une couverture systématique de l'espace des paramètres devient vite impraticable dès que l'on veut augmenter la résolution, c'est à dire choisir des mailles plus fines. Il faut donc se tourner vers des solutions plus économiques en temps de calcul.

Une solution pragmatique consiste à se limiter au calcul d'une liste de coordonnées de points appartenant à l'hypersurface qui délimite la région de confiance. Le nombre de points qu'il est nécessaire de calculer pour une bonne représentation est variable ; il est fonction du nombre de paramètres du modèle et de la régularité de la région de confiance : une hypersurface très tourmentée, avec de nombreux points anguleux, demandera plus de points qu'une surface régulière.

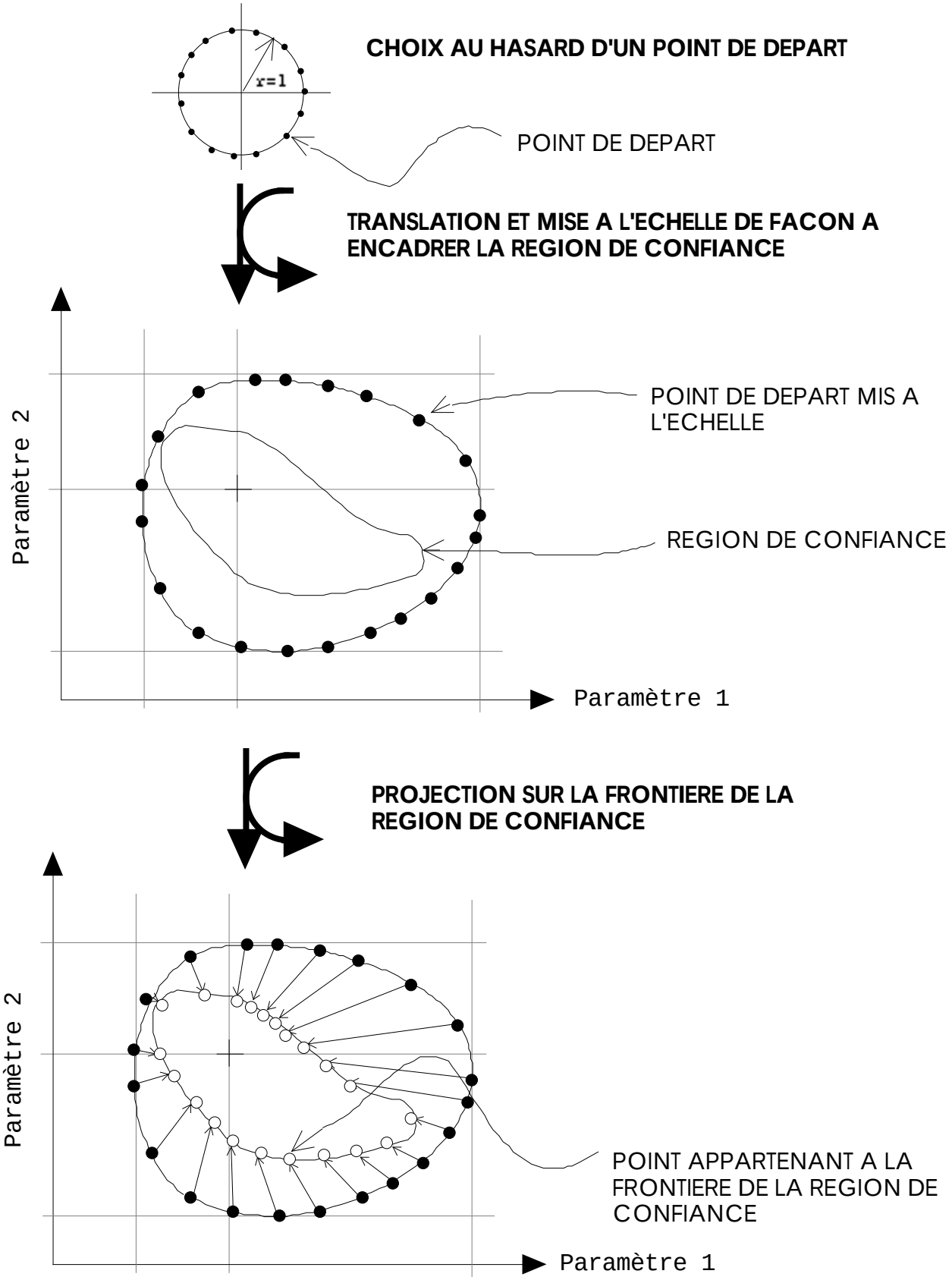
Le problème principal est d'obtenir une distribution aussi homogène que possible des points appartenant à cette hypersurface. Les étapes principales que nous avons retenues sont les suivantes : i) choix au hasard d'un point de départ à la surface d'une hypersphère centrée sur l'origine et de rayon unité ii) translation et mise à l'échelle de cette hypersphère de façon à inclure la région de confiance iii) projection de ce point mis à l'échelle en direction du point optimal $\hat{\Theta}$ de façon à obtenir les coordonnées du point appartenant à l'hypersurface iv) projection des points appartenant à l'hypersurface sur différents plans pour obtenir une représentation graphique de la région de confiance. Ces étapes sont présentées graphiquement (*cf.* Fig. 3.6) dans le cas d'un modèle à deux paramètres.

3.8.2 ECHANTILLONNAGE ALEATOIRE

Un générateur de nombres pseudo-aléatoires connu pour avoir un comportement satisfaisant jusqu'à 100000 appels successifs (CHASSE et DEBOUZIE 1974) a été utilisé pour choisir au hasard un point à la surface de l'hypersphère. Pour obtenir une distribution homogène des points à la surface de l'hypersphère, on commence par tirer un point dans un hypercube en choisissant ses coordonnées au hasard dans l'intervalle [-1,1]. Quand le point est en dehors de l'hypersphère de rayon 1 centrée sur l'origine, ce point est rejeté et on en tire un autre jusqu'à ce qu'il soit à l'intérieur de l'hypersphère. Quand le point est à l'intérieur de l'hypersphère, on divise toutes ses coordonnées par sa distance à l'origine de façon à projeter ce point à la surface de l'hypersphère. Une distribution homogène des points à la surface de l'hypersphère est ainsi facilement obtenue. Cependant, comme le nombre de tirages nécessaires augmente de façon asymptotiquement exponentielle avec la dimension de l'espace (RUBINSTEIN 1981), on ne peut travailler efficacement qu'avec des espaces de faible dimension (e.g. 8 paramètres constituent un maximum raisonnable pour un Macintosh IIfx).

Fig. 3.6

SCHEMA DE LA DETERMINATION DES REGIONS DE CONFIANCE



3.8.3 TRANSLATION ET MISE A L'ECHELLE

La translation de l'hypersphère consiste à déplacer son centre au point $\hat{\Theta}$ où la somme des carrés des écarts est minimale. La mise à l'échelle revient à déformer l'hypersphère en modifiant son rayon, pour chaque axe, de façon à tenir compte des différences d'échelle pour les paramètres. De plus, comme les régions de confiance sont parfois hautement asymétriques avec les modèles non linéaires, on s'autorise à utiliser une mise à l'échelle différente selon que les valeurs sont en deça ou en delà de la valeurs optimale. Les paramètres d'échelle sont relativement faciles à déterminer quand une interprétation graphique ou biologique des paramètre existe. Quand un paramètre n'a pas de sens évident une démarche procédant par approximations successives pour encadrer les valeurs extrêmes est souvent la seule solution restante.

3.8.4 PROJECTION SUR L'HYPERSURFACE

Pour déterminer les coordonnées du point appartenant à la fois à l'hypersurface délimitant la région de confiance et à la droite passant par le point $\hat{\Theta}$ et le point de départ, on peut utiliser une méthode itérative simple procédant par interpolations linéaires, mais on a intérêt alors à travailler avec la racine carré du critère pour compenser son comportement quadratique.

Le critère d'arrêt est la différence relative entre la somme des carrés des écarts courante $S(\hat{\Theta}_i)$ et la valeur seuil définissant la région de confiance soit suffisamment petite,

$$\frac{\text{Seuil} - S(\hat{\Theta}_i)}{\text{Seuil}} < \varepsilon,$$

avec ε valant par exemple 10^{-3}. Plus ε est petit, meilleure est la localisation du point final. Pour éviter de boucler indéfiniment, il est toujours prudent de fixer un nombre maximum d'itérations, par exemple 10^{+3}.

3.8.5 REPRESENTATIONS GRAPHIQUES

Quand la dimension de l'espace des paramètres est supérieure à 2, une façon simple de représenter l'hypersurface est de la projeter sur différents plans de façon à obtenir "l'ombre" de celle-ci. En général, $(p^2 - p)/2$ projections sont suffisantes pour représenter l'hypersurface. Les plans de projection sont simplement ici les plans définis par les axes de chaque paramètre.

3.8.6 EXEMPLES D'APPLICATION

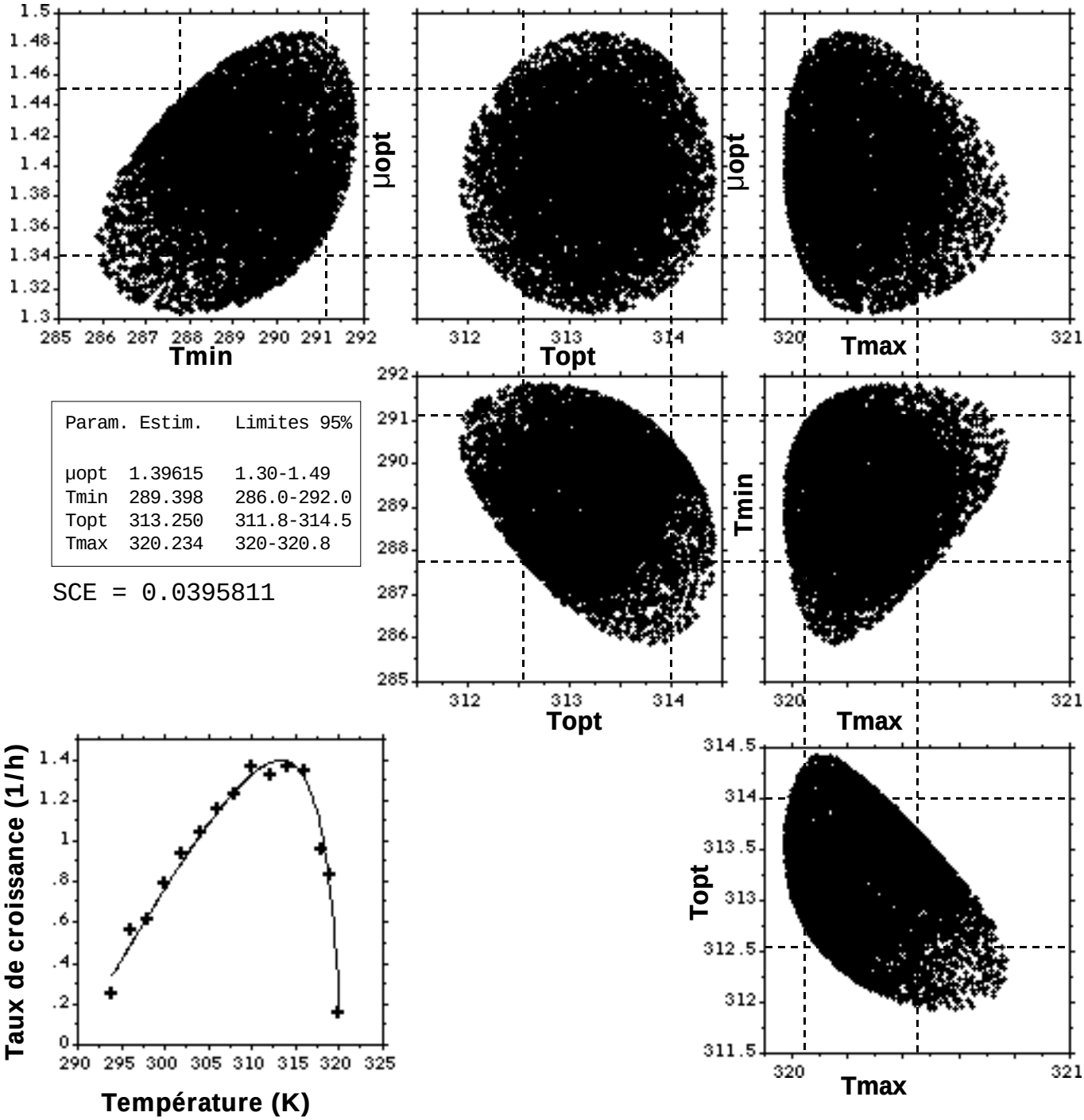
3.8.6.2 Le contexte

Rappelons brièvement comment les régions de confiance pour la valeur des paramètres des modèles non-linéaires sont généralement calculées. Elles sont fondées sur une approximation quadratique du critère au voisinage de la valeur optimale des paramètres. Pour cette raison, elles ne sont que des régions approximatives. Le fait que

Fig. 3.7

REGIONS DE CONFIANCE POUR LE MODELE DES TEMPERATURES CARDINALES

Région de confiance (α=0.05) pour le modèle des températures cardinales sur le jeu de données 6.3. Chaque croix dans les projections ci-dessous représente un point appartenant à l'hypersurface définissant la région de confiance "exacte" pour la valeur des paramètres. Les coordonnées de 10000 points on été calculées dans cet exemple. Les lignes en pointillés indiquent les intervalles de confiance marginaux approximatifs classiques.



Param.	Estim.	Limites 95%
μopt	1.39615	1.30-1.49
Tmin	289.398	286.0-292.0
Topt	313.250	311.8-314.5
Tmax	320.234	320-320.8

SCE = 0.0395811

cette approximation puisse être très trompeuse est bien connu (BATES et WATTS 1988, SEBER et WILD 1989). Il est difficile de savoir si l'approximation est valide sans l'aide d'un statisticien parce que la structure des données et la structure du modèle interfèrent de façon complexe. De plus, quand le modèle possède plus de deux paramètres, il devient impossible représenter directement la projection de l'ellipsoïde de confiance, et il faut se contenter des intervalles de confiance marginaux pour la valeur des paramètres, avec éventuellement la représentation graphique de la matrice des corrélation via les ellipses de confiances marginales (ce qui revient à faire des coupes de la région de confiance et non des projections).

En résumé, les régions de confiances classiques pour les modèles non-linéaires sont marginales et approximatives. N'étant pas compétents pour discuter de leur validité nous avons pris le parti d'une exploration brutale du critère pour nous affranchir de ces problèmes. L'approche n'est pas très élégante, mais la fin justifie les moyens. Dans un premier exemple nous montrons la faisabilité de l'approche dans le cas d'un modèle non-linéaire à quatre paramètres. Dans le deuxième exemple nous retournons au problème biologique qui nous intéresse.

3.8.6.2 Le modèle des températures cardinales

Ce modèle défini plus haut [III.26] est utilisé pour modéliser l'évolution du taux de croissance en fonction de la température. Les données de cet exemple (annexe 6.8) concernent Escherichia coli. Comme on peut le voir ci-contre, le modèle s'ajuste bien aux données, mais le faible nombre de points disponibles (15) permet difficilement de tester la normalité des résidus. Les valeurs obtenues pour les paramètres (μ_{opt} = 1.39615 [1.30-1.49] h-1, T_{min} = 16.398 [13.0-19.0]°C, T_{opt} = 40.250 [38.8-41.5]°C, T_{max} = 47.234 [47-47.8]°C) sont tout à fait raisonnables d'un point de vue biologique pour un mésophile tel que Escherichia coli.

La région de confiance pour la valeur des paramètres est régulière, compacte, sans aplatissement fortement prononcé. Sur cet exemple au moins, il n'y a pas de forte corrélation structurelle visible entre les paramètres (ce modèle est donc intéressant à double titre puisqu'il cumule l'avantage d'une faible corrélation avec l'existence d'une interprétation biologique et graphique des paramètres). En tout état de cause, cet exemple montre qu'il est tout à fait possible de déterminer de façon exacte l'étendue d'une région de confiance pour un modèle non linéaire à quatre paramètres.

3.8.6.3 Le modèle de Monod

Dans le cas du modèle de Monod, comme il n'a que deux paramètres, la détermination des régions de confiance est bien plus simple parce que les outils pour représenter des surfaces de réponse en fonction de deux paramètres existent prêt à l'emploi. Nous avons utilisé ici la fonction ContourPlot de Mathematica™ qui permet de représenter une surface en courbes de niveau.

Les données (*cf.* Fig. 3.8) sont présentées dans l'annexe 6.9. Il s'agit du taux de croissance de Escherichia coli K12 CIP 54117 en fonction de la concentration en substrat limitant : le glucose. Pour modifier la valeur du paramètre μ_{max}, nous avons utilisé deux milieux de cultures différents, un milieu synthétique pauvre et un milieu synthétique riche. Dans le milieu synthétique pauvre, la seule source de carbone est le glucose, et il faut donc que les bactéries synthétisent à partir de cette source tous les composés dont elles ont besoin pour assurer leur croissance. En revanche, le milieu riche contient en concentrations non limitantes un grand nombre de "briques élémentaires" que les bactéries peuvent incorporer directement, ce qui leur permet de faire l'économie de toutes les voies de synthèse correspondantes, et donc de réduire le délai minimum pour la production de la biomasse.

Pour le milieu pauvre, la somme des carrés des écarts minimale vaut 12.9806 pour μ_{max} = 0.015234 mn^{-1} et K_s = 1.9246 $mg.l^{-1}$. Les intervalles de confiance avec un risque de première espèce de 5% sont pour μ_{max} : [0.0137-0.0170] mn^{-1} et pour K_s : [1.16-2.99] $mg.l^{-1}$. L'amplitude relative des intervalles de confiance est donc de 22% pour μ_{max} et de 95% pour K_s ce qui correspond à un indice de valeur globale [III.22] de 21%. Les intervalles de confiance ne sont pas centrés sur la valeur estimée des paramètres, l'amplitude de l'écart à droite est supérieure de 15% pour μ_{max} et de 39% pour K_s par rapport à l'amplitude de l'écart à gauche. Le temps de doublement de la population déduit de la valeur de μ_{max} est égal à 45'30" [40'45"-50'35"].

Pour le milieu riche, la somme des carrés des écarts minimale vaut 12.7945 pour μ_{max} = 0.030966 mn^{-1} et K_s = 6.5141 $mg.l^{-1}$. Les intervalles de confiance, toujours avec un risque de première espèce de 5%, sont de pour μ_{max} : [0.0271-0.0360] mn^{-1} et pour K_s : [4.58-9.29] $mg.l^{-1}$. L'amplitude relative des intervalles de confiance est de 29% pour μ_{max} et de 72% pour K_s, soit un indice de valeur globale de 21%. L'amplitude de l'écart à droite est supérieure de 30% pour μ_{max} et de 44% pour K_s par rapport à l'amplitude de l'écart à gauche. Le temps de doublement de la population correspondant à μ_{max} est égal à 22'25" [19'15"-25'35"].

Fig. 3.8

REGIONS DE CONFIANCE POUR LE MODELE DE MONOD

Taux de croissance de *Escherichia coli* K12 CIP 54117 en fonction de la concentration en glucose dans un milieu synthétique riche (croix) ou pauvre (carrés). Le jeu de données correspondant est donné dans l'annexe 6.9. Les lignes continues représentent le meilleur ajustement au modèle de Monod, en travailllant avec le logarithme du taux de croissance pour stabiliser la variance des résidus. L'encart donne les régions de confiance pour la valeur des paramètres avec un risque de première espèce de 1% et 5%. Une augmentation significative de Ks avec μmax est observée.

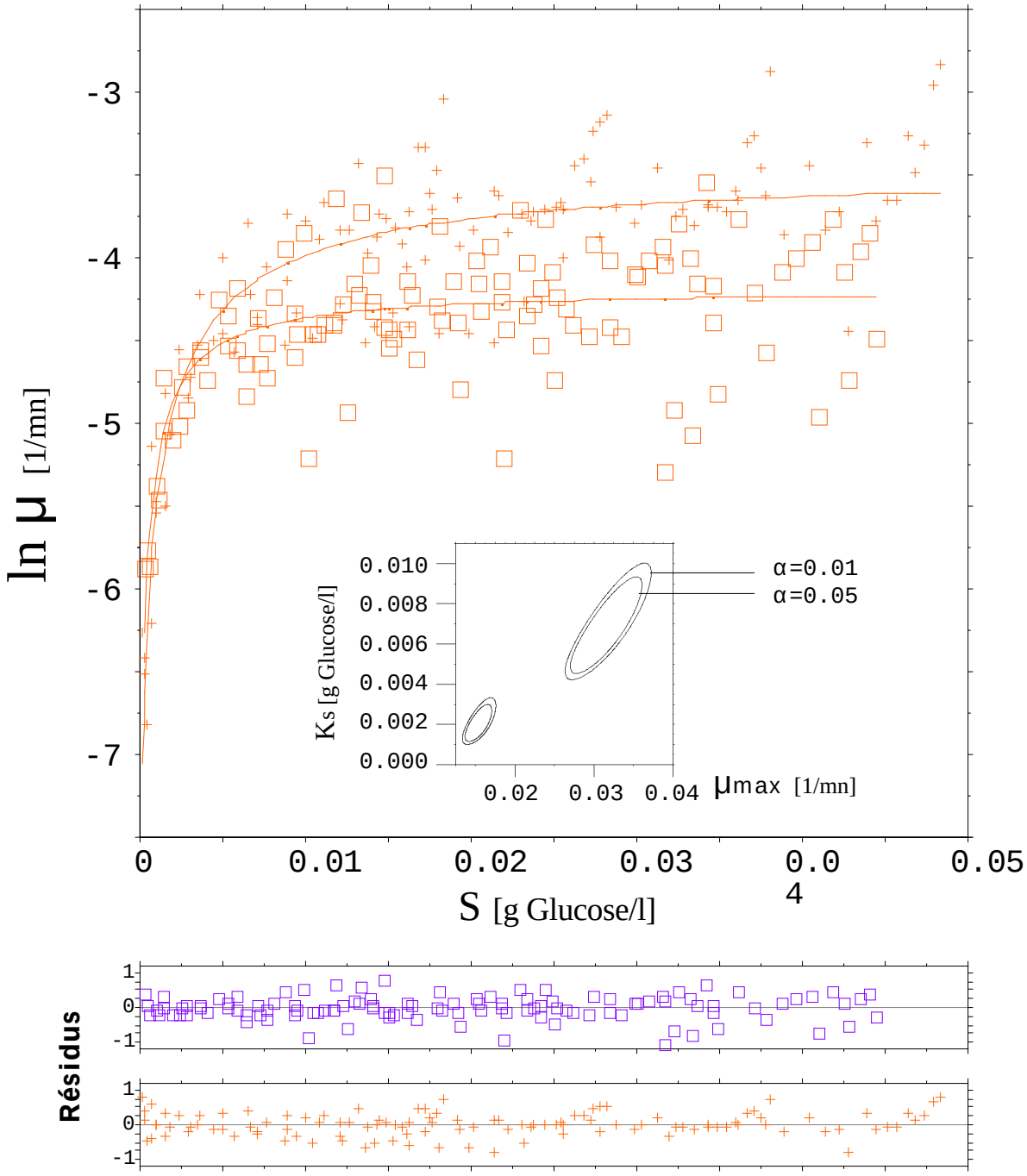
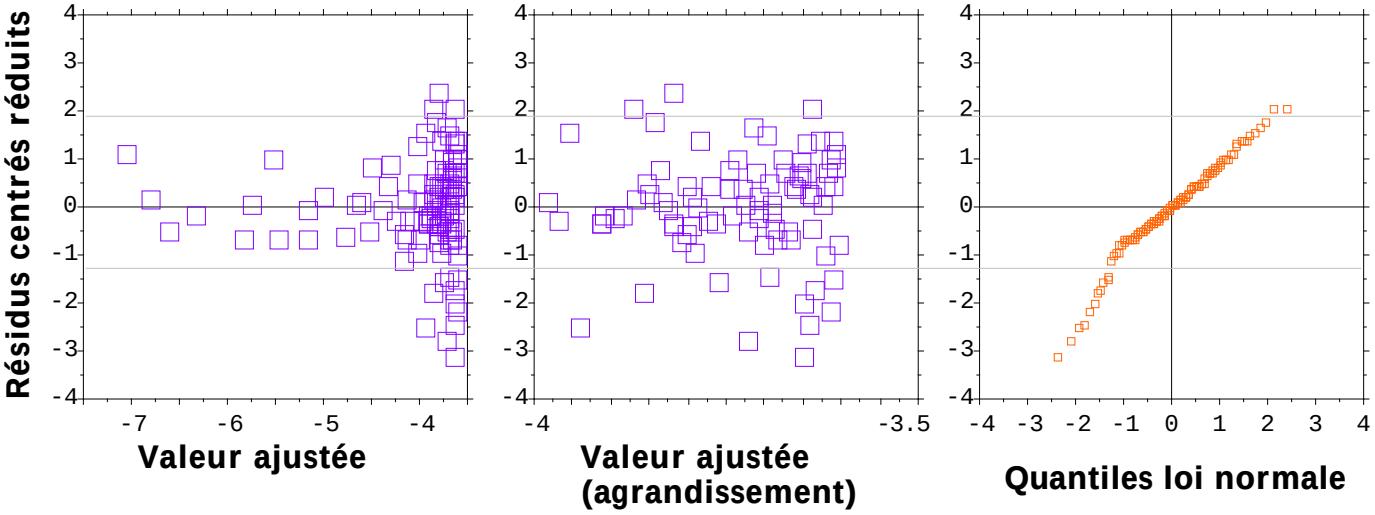


Fig. 3.9

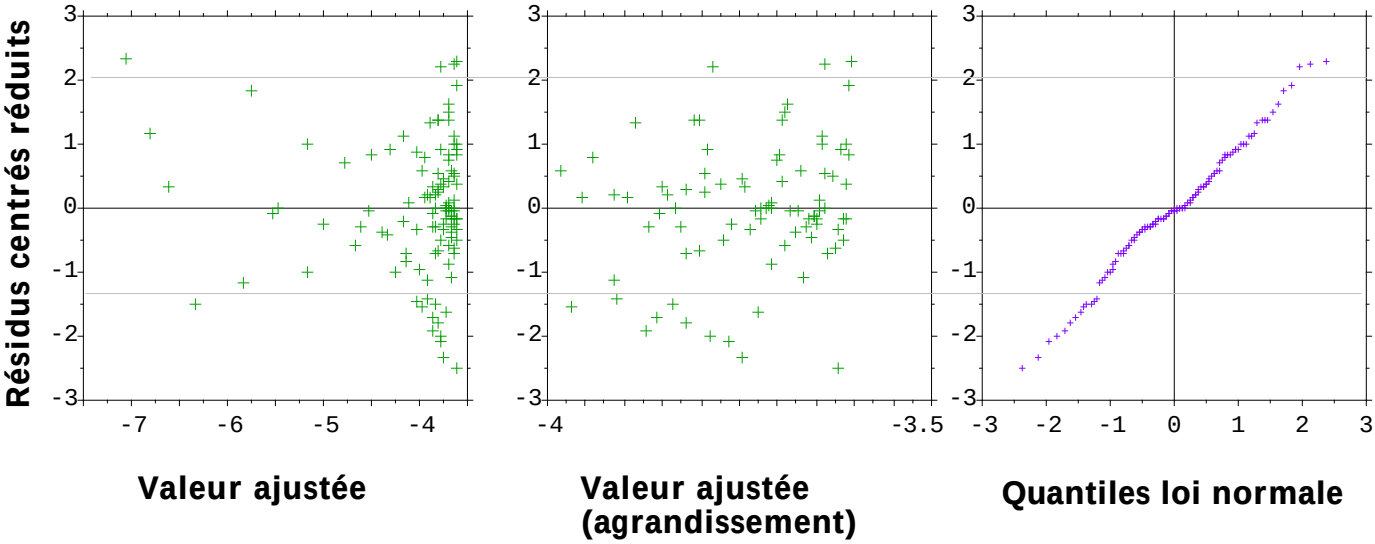
ANALYSE DES RESIDUS

Représentation graphique des écarts entre les valeurs prédites par le modèle de Monod et les valeurs observées (résidus). La représentation des résidus contre les valeurs prédites est représentée sur deux graphiques -à gauche- pour des questions d'échelle. La représentation des résidus standardisés contre leur valeur attendue si la distribution était normale permet de visualiser les écarts à cette loi, et en particuler de détecter les points trop extrêmes. Les points compris entre les deux lignes horizontales en pointillés ont été sélectionnés pour la suite.

1. MILIEU PAUVRE



2. MILIEU RICHE



Les valeurs obtenues pour les paramètres sont réalistes d'un point de vue biologique. Une temps de doublement de 45 mn correspond bien à ce que l'on observe pour les entérobactéries poussant dans un milieu pauvre, et un temps de doublement de 22 mn est typique pour les milieux riches, tel que le bouillon de Mueller-Hinton. Les valeurs des paramètres K_s (11 et 33 μM) sont également dans la bonne moyenne des valeurs rapportées dans la littérature pour Escherichia coli avec le glucose comme facteur limitant (cf. chapitre 1).

Dans les deux cas, la région de confiance pour la valeur des paramètres présente un contour ellipsoïdal, avec un aplatissement prononcé donnant au plus long segment de droite sécant une orientation parallèle à la première bissectrice du repère. Nous sommes donc dans un cas de corrélation structurelle positive entre les deux paramètres : en partant du minimum de la somme des carrés des écarts, une augmentation de la valeur du paramètre μ_{max} va augmenter la somme des carrés des écarts, mais cette augmentation peut alors être partiellement compensée par une augmentation de la valeur du paramètre K_s. Cette corrélation structurelle positive est particulièrement dommageable car elle diminue la résolution dans la détection d'une augmentation éventuelle du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max}. De plus, la région de confiance est globalement asymétrique à droite, c'est à dire avec un étirement pour les fortes valeurs des deux paramètres, ce qui exacerbe la perte de résolution due à la corrélation structurelle positive.

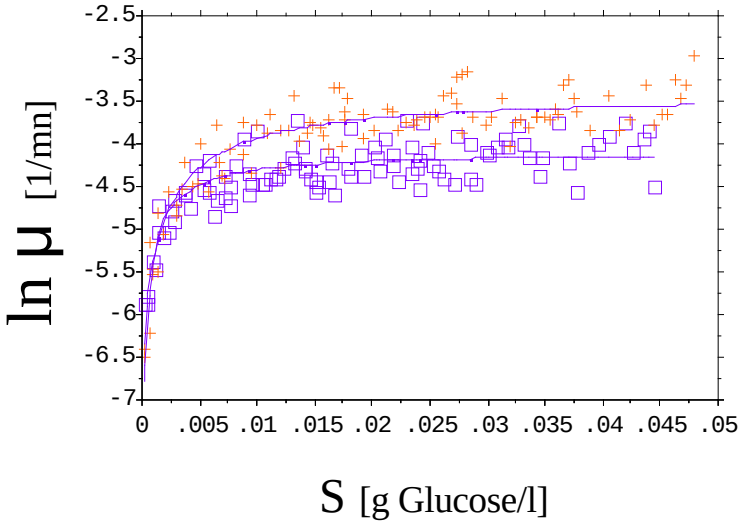
En dépit de ces conditions difficiles, les intervalles de confiance pour la valeur des paramètres ne se chevauchent pas. Par conséquent, avec un risque de première espèce de 5%, les données expérimentales ne sont pas en contradiction avec une augmentation du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max}.

L'examen des résidus (cf. Fig. 3.9) permet de faire les remarques suivantes. La variance des résidus semble être indépendante de la variable prédictive -la concentration en glucose- et de la variable prédite -le taux de croissance- ce qui nous conforte dans le choix du modèle d'erreur. Il est difficile de se prononcer sur l'existence d'une autocorrélation entre les résidus parce que, les concentrations en glucose n'étant pas régulièrement espacées, on ne peut plus employer les techniques utilisées habituellement pour les séries temporelles régulières. Par contre, l'examen de la normalité de la distribution des résidus montre que cette dernière est perturbée par la présence de points très excentriques. Si on recommence l'analyse après retrait des points les plus excentriques (*cf.* Fig. 3.10), les résultats suivants sont obtenus.

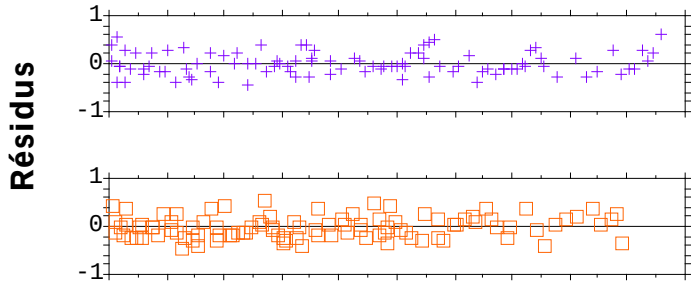
Pour le milieu pauvre, la somme des carrés des écarts minimale vaut 5.1056 pour μ_{max} = 0.0166899 mn^{-1} et K_s = 2.33825 $mg.l^{-1}$. Les intervalles de confiances (α=0.05) sont pour μ_{max} : [0.0154-0.0182] mn^{-1} et pour K_s : [1.70-3.15] $mg.l^{-1}$. L'amplitude relative des deux intervalles est donc de 17% pour μ_{max} et de 62% pour K_s, soit un indice de valeur globale de 11%. L'amplitude de l'écart à droite est supérieure de 17% pour μ_{max} et de 27% pour K_s. Le temps de doublement de la population est égal à 41'30" [38'05"-45'00"].

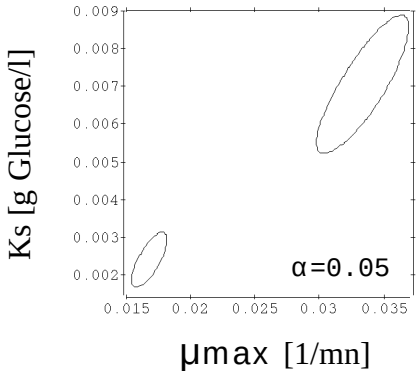
Fig. 3.10

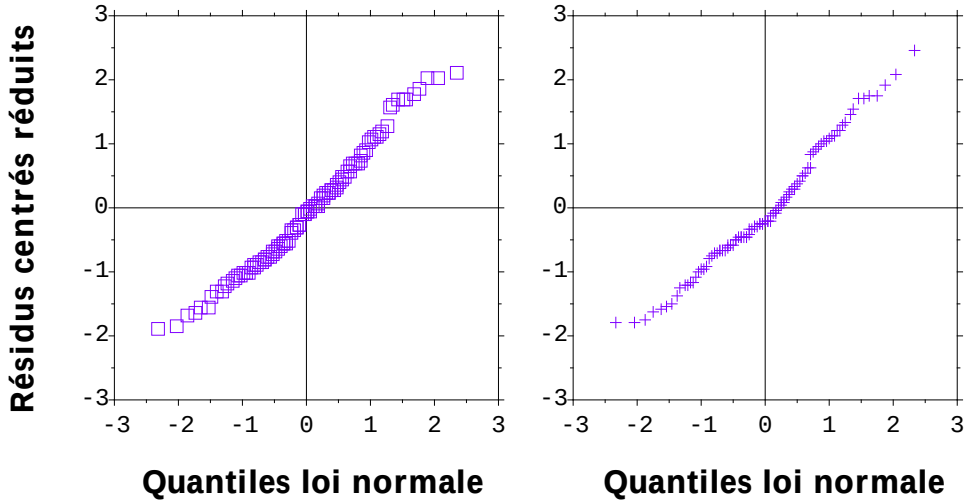
REGIONS DE CONFIANCE POUR LE MODELE DE MONOD APRES ELIMINATION DES POINTS EXTREMES



Taux de croissance de *Escherichia coli* K12 CIP 54117 en fonction de la concentration en glucose dans un milieu synthétique riche (croix) ou pauvre (carrés). Jeu de données 6.9 après élimination des points extrêmes. Une augmentation significative du paramètre Ks avec le paramètre μmax est observée.



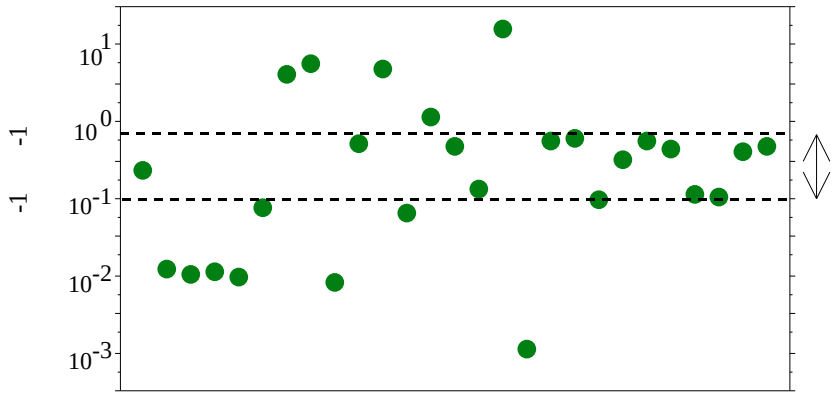




Pour le milieu riche, la somme des carrés des écarts minimale vaut 5.34517 pour μ_{max} = 0.033020 mn^{-1} et K_s = 6.8133 $mg.l^{-1}$. Les intervalles de confiance (α=0.05) sont pour μ_{max} : [0.0298-0.0369] mn^{-1} et pour K_s : [5.22-8.88] $mg.l^{-1}$. L'amplitude relative des intervalles de confiance est de 22% pour mmax et de 54% pour K_s, soit un indice de valeur globale de 12%. L'amplitude de l'écart à droite est supérieure de 21% pour μ_{max} et de 30% pour K_s par rapport à l'amplitude de l'écart à gauche. Le temps de doublement de la population est égal à 21'00" [18'50"-23'15"].

Pour les deux milieux, la suppression des points les plus excentriques conduit à une diminution sensible de la somme des carrés des écarts (-61% et -58%), à une augmentation des valeurs estimées des paramètres (+10%, +22%, +17% et +5%), à une diminution de l'amplitude relative des intervalles de confiance (-22%, -35%, -24% et -14%) et donc à l'indice de valeur globale (-48% et -43%), et a une normalisation de la distribution des résidus (cf. ci-contre). La conclusion quant à elle ne change pas : nous obtenons encore une augmentation significative du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max}.

L'estimation du rapport de Healey [III.18] que nous pouvons calculer est de 0.219 [0.10-0.62] $h^{-1}.mg^{-1}.l$, ce qui concrètement signifie qu'aux faibles concentrations en glucose une augmentation de 0.1 $mg.l^{-1}$ se traduit par une augmentation de 0.02 h^{-1} du taux de croissance. Cette valeur ne semble pas être physiquement aberrante, et est compatible avec les valeurs déduites des données de la littérature pour Escherichia coli avec le glucose comme facteur limitant :



3.9 RESUME DU TROISIEME CHAPITRE

Les paramètres du modèle de Monod sont théoriquement identifiables à partir du suivi de la biomasse dans des cultures en cuvée, mais des problèmes sont rencontrés en pratique, en particulier quand la structure des données se rapproche d'une forme dégénérée du modèle. La corrélation structurelle positive entre les deux paramètres gêne la détection d'une augmentation de la valeur du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max}.

Le modèle d'erreur relative constante sur le taux de croissance semble être satisfaisant. Les données expérimentales ne sont pas en contradiction avec l'hypothèse d'une augmentation du paramètre K_s avec le paramètre μ_{max} pour Escherichia coli K12 CIP 54117 avec le glucose comme facteur limitant, lorsque l'on augmente μ_{max} en enrichissant le milieu.

4. ENERGIE DE MAINTENANCE ET ANTIBIOTIQUES

ou LE SENS INTERDIT

4.1 L'ENERGIE DE MAINTENANCE

4.1.1 UNE NOTION DEJA ANCIENNE

La notion d'énergie de maintenance, voisine de celle du métabolisme basal des métazoaires, a été introduite très tôt par les microbiologistes : il en est déjà fait mention en 1898 dans le traité de microbiologie de Duclaux (PIRT 1965). Dès le début du XXième siècle, elle devient un thème rémanent de la physiologie des micro-organismes (MAZE 1902 cité par McGREW et MALLETTE 1962, TERROINE et WURMSER 1922 cités par GOMA et al. 1974, BUCHANAN et FULMER 1928 cités par LAMANNA 1963, RAHN 1932 cité par MALLETTE 1963).

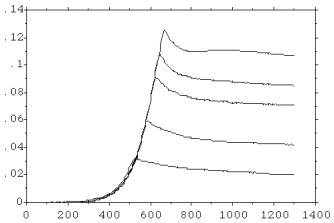
L'énergie de maintenance d'une population bactérienne fait référence à l'énergie consommée pour des besoins autres que la croissance, c'est à dire pour des fonctions différentes de la production de biomasse. Des exemples de tels processus énergivores sont :

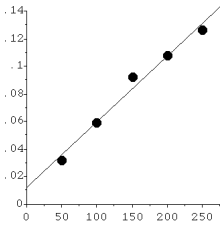
- la mobilité des cellules
- l'entretien des macromolécules dégradées par l'hydrolyse et la racémisation
- le remplacement des cellules mortes
- le maintien de gradients transmembranaires de solutés (e.g. potassium et glutamate chez Klebsiella aerogenes HUETING et al. 1979)
- l'alimentation de cycles futiles (e.g. la catalyse simultanée de la fructose 6-phosphate kinase et de la fructose 1,6-diphosphatase conduit à l'hydrolyse à perte de l'ATP).

Fig. 4.1

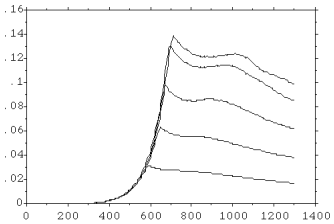
RENDEMENT DE LA CROISSANCE

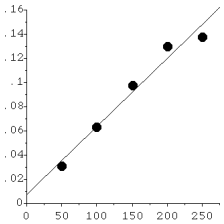
Rendement de la croissance en fonction de la concentration initiale en glucose et en fructose pour cinq souches en milieu M63. On retrouve ici la relation linéaire entre la concentration initiale en sucre et l'accroissement de la biomasse. Pour la souche *Escherichia coli* ATCC 29194 qui présente un phénomène de diauxie, la relation est vérifiée que l'on considère le premier ou le deuxième plateau atteint. Le temps est gradué en minutes et la biomasse en densité optique (1/cm).



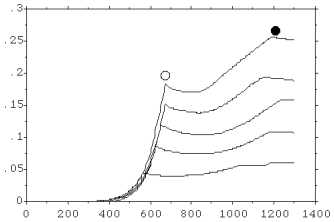


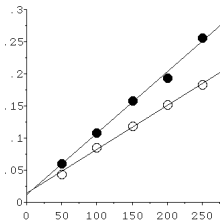
Serratia sp. I 333 — So mg Glucose/l



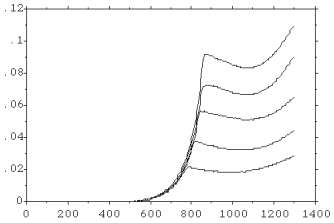


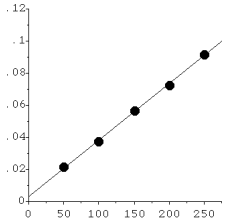
Escherichia coli K12 CIP 54117 — So mg Glucose/l



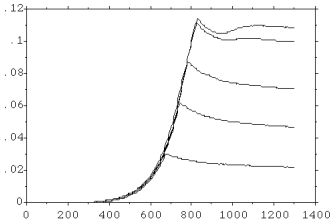


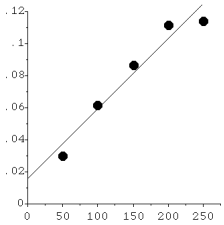
Escherichia coli ATCC 29194 — So mg Glucose/l



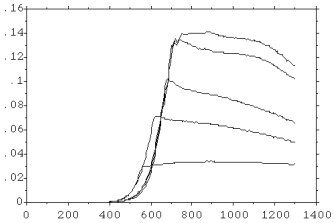


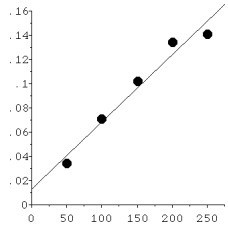
Salmonella sp. I 2103 — So mg Glucose/l



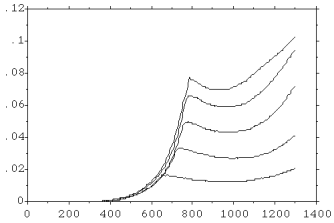


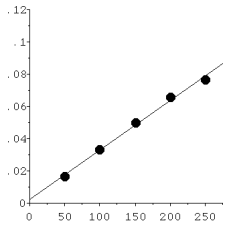
Serratia sp. I 333 — So mg Fructose/l





Escherichia coli ATCC 25922 — So mg Glucose/l





Salmonella sp. I 2103 — So mg Fructose/l

- le maintient du pH intracellulaire (e.g. chez Thiobacillus ferrooxidans SENEZ 1962)
- la détoxification (e.g. CHU et PAPOUTSAKIS 1987)

La physiologie des micro-organismes étant étudiée sur des collections de nombreux individus pour augmenter la sensibilité des mesures, il n'est pas possible de différencier l'énergie de maintenance individuelle (entretien des entités sub-cellulaires de chaque individu) de l'énergie de maintenance collective (entretien des entités individuelles de la population). L'énergie de maintenance propre à chaque individu est incluse dans l'énergie de maintenance collective qui, elle seule, est accessible à la mesure. Ce point mérite d'être souligné car le remplacement des individus morts ne semble jamais avoir été avancé comme processus à l'origine de l'énergie de maintenance.

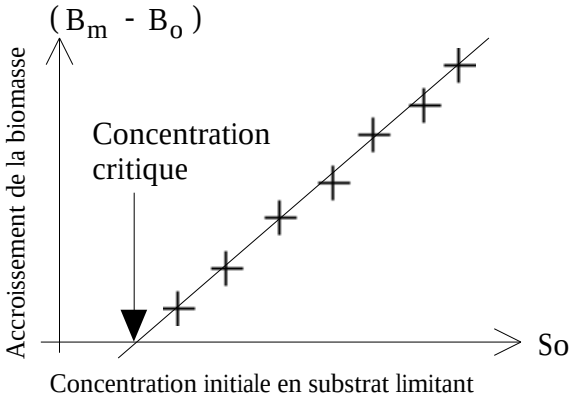
4.1.2 MISE EN EVIDENCE ET MESURE

4.2.1.1 DETECTION D'UNE CONCENTRATION SEUIL

Cette première approche visait essentiellement à détecter l'existence de l'énergie de maintenance, et non pas à la quantifier. Si l'énergie de maintenance existe, alors il existe une concentration en substrat critique telle que la croissance n'est plus possible en dessous du seuil qu'elle définit.

La mise en œuvre de ce principe consiste à mesurer l'accroissement total de la biomasse (B_m - B_o) pour différentes concentrations initiales en substrat (s_o).

L'existence d'une concentration critique en nutriment est ensuite recherchée par extrapolation de la tendance observée vers les faibles concentrations.



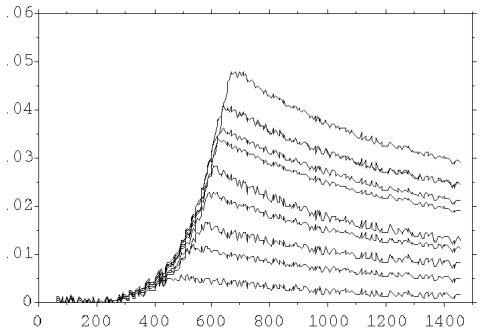
Dans les faits, en ce qui concerne la détection de l'énergie de maintenance, cette approche n'a conduit qu'à une longue suite d'échecs. Par extrapolation, une concentration critique négative ou nulle est obtenue dans de nombreux cas :

- MAZE (1902) cité par McGREW et MALLETTE (1962) pour des levures avec le saccharose et l'éthanol.
- MONOD et TEISSIER (1936) pour Glaucoma pyriformis avec un bouillon de foie de veau et un bouillon de peptone.
- ROTTIER (1936) cité par McGREW et MALLETTE (1962) pour Polytoma uvella avec des peptones et l'asparagine.
- MONOD (1937, 1941), pour Escherichia coli et Bacillus subtilis avec le glucose.
- DAGLEY et HINSHELWOOD (1938), LODGE et HINSHELWOOD (1939) cités par MALLETTE (1963) pour Aerobacter aerogenes avec le glucose, le lactose et l'acide tartrique.

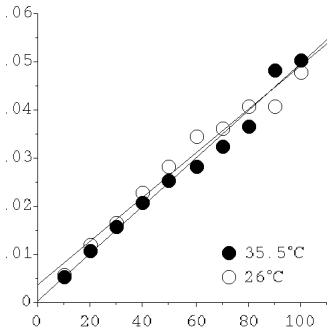
Fig. 4.2

RENDEMENT DE LA CROISSANCE POUR DEUX TEMPERATURES

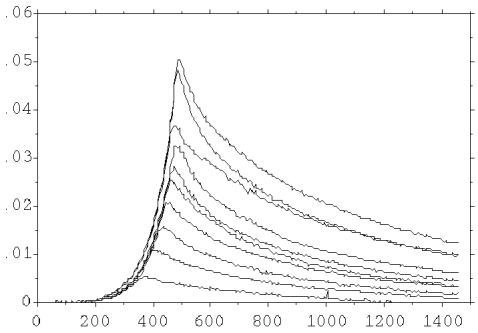
Rendement de la croissance de *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* et *Serratia marcescens* en fonction de la concentration initiale en glucose dans le milieu M63 à 35.5°C et 26°C. Les courbes de croissance à gauche sont celles observées à 26°C et à droite à 35.5°C, le temps en abscisse est gradué en minutes et la biomasse en ordonnée par sa contribution à la densité optique du milieu (1/cm). L'expérience est dupliquée pour *Escherichia coli*. Le graphique médian représente l'accroissement de la biomasse en fonction de la concentration initiale en glucose pour les deux températures.



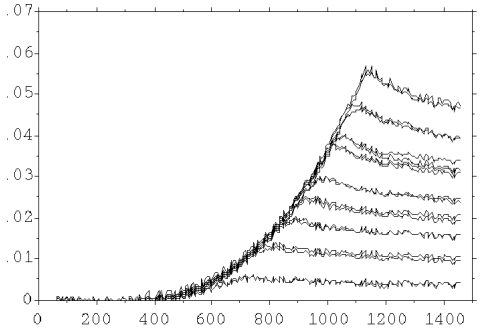
***Enterobacter cloacae* 26 °C**



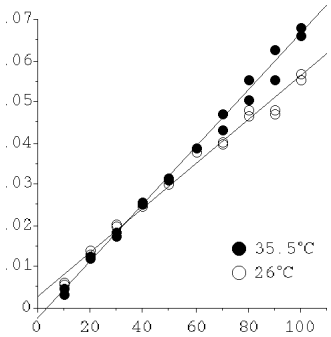
So mg glucose/l



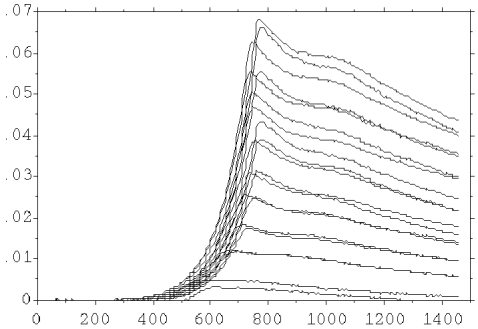
***Enterobacter cloacae* 35.5 °C**



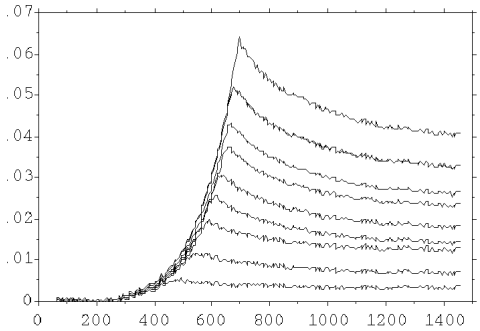
***Escherichia coli* 26 °C**



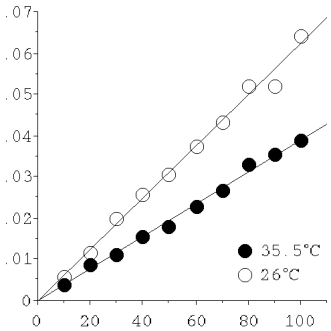
So mg glucose/l



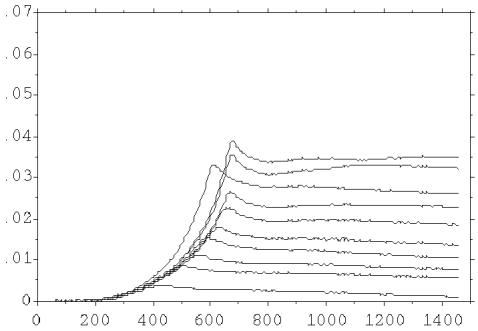
***Escherichia coli* 35.5 °C**



***Serratia marcescens* 26 °C**



So mg glucose/l



***Serratia marcescens* 35.5 °C**

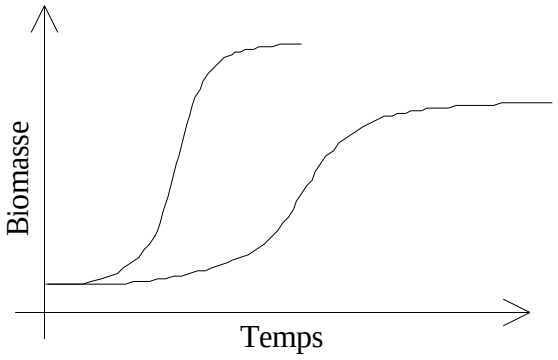
- Pour Serratia sp., Salmonella sp., Escherichia coli K12 CIP 54117, Escherichia coli ATCC 29194, Escherichia coli ATCC 25922 avec le glucose où le fructose (*cf.* Fig. 4.1).
- DAGLEY et al. (1951) cités par MALLETTE (1963) pour Aerobacter aerogenes avec le glucose en aérobiose ou en anaérobiose.
- BAUCHOP et ELSDEN (1960) en anaérobiose pour Saccharomyces cerevisiae avec le glucose; Streptococcus faecalis NCTC 6783 avec le glucose, le ribose, et l'arginine; Propionibacterium pentosaceum avec le glucose, le glycérol et l'acide lactique; Pseudomonas lindneri ATCC 10988 avec le glucose.
- BATTLEY (1960) cité par MALLETTE (1963) pour Saccharomyces cerevisiae avec l'acétate, l'éthanol et le glucose en aérobiose ou en anaérobiose.
- ECKER et LOCKHART (1961) pour Escherichia coli avec le glucose.
- CURDS et COCKBURN (1968) pour Tetrahymena pyriformis avec un bouillon de peptones ou Klebsiella aerogenes NCIB 8017.
- ISHIDA et al. (1982) pour Aeromonas sp. avec le glutamate.

Une explication plausible de ces résultats négatifs a été avancée par McGREW et MALLETTE (1963). Pour pouvoir extrapoler de façon fiable, il faut travailler avec des concentrations initiales en substrat faibles afin d'éviter de déborder trop en dehors du domaine d'étude. Les accroissements de biomasse sont en conséquence quantitativement peu importants, ce qui contraint à utiliser des inoculums faibles (e.g. 10^6 cellules/ml) pour que le signal ne soit pas noyé dans le bruit de fond. L'effet de l'énergie de maintenance est alors peu intense puisqu'une faible biomasse est présente, et il est donc difficile de la mettre en évidence.

4.2.1.2 RENDEMENT POUR DIFFERENTS TAUX DE CROISSANCE

Cette approche a été proposée par MONOD (1937) pour détecter de façon qualitative l'existence de l'énergie de maintenance. Le principe consiste à suivre la croissance d'une population bactérienne pour différents taux de croissance et à mesurer l'accroissement total de la biomasse.

Si l'énergie de maintenance existe, on s'attend à ce que l'accroissement soit moindre pour le plus faible taux de croissance puisque qu'il faut alors assurer la maintenance la population plus longtemps. Autrement dit, des différences de rendement apparent pour les différents taux sont attendues.

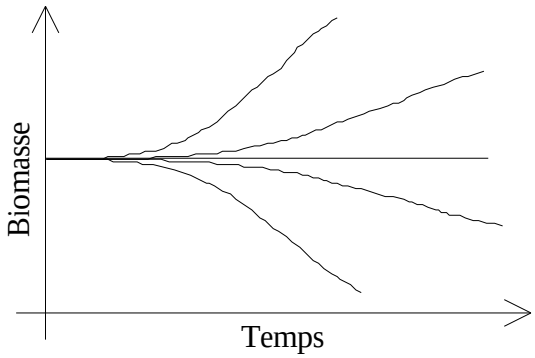


Pour Escherichia coli et Bacillus subtilis, MONOD (1937) a modifié le taux de croissance en diminuant la pression partielle en oxygène dans le milieu de culture. Il n'observe pas de diminution sensible du rendement. Les résultats de TERROINE et WURMSER (1922) cités par GOMA et al. (1979) où le taux de croissance de Aspergillus niger a été modifié par des variations de pH ne semblent pas non plus indiquer l'existence d'une énergie de maintenance. De même, une variation de température d'environ 10°C ne modifie pas sensiblement le rendement apparent pour Enterobacter cloacae et Escherichia coli (cf. Fig. 4.2).

Il faut souligner avec MONOD (1941) que cette méthode n'est pas exempte de critiques car on ne peut pas écarter l'hypothèse que le moyen utilisé pour modifier le taux de croissance ne modifie pas directement le rendement théorique de la conversion du substrat en biomasse. Par exemple, dans le cas de Serratia marcescens (cf. Fig. 4.2), il est vraisemblable que la température joue directement sur le rendement théorique.

4.2.1.3 MESURE A PARTIR DE CULTURES DE SURVIE

Cette approche utilisée par McGREW et MALLETTE (1962) permet de quantifier de façon précise et directe l'énergie de maintenance.
Ces auteurs utilisent une quantité de biomasse relativement importante (10 ml d'une solution à 5. 10^8 cellules/ml) sur des périodes de temps longues, de l'ordre de la semaine. Ils recherchent directement la quantité de nutriment qu'il faut apporter périodiquement pour maintenir la population à la même densité.



En rapportant la quantité de substrat consommée par unité de temps à la biomasse présente, la valeur de l'énergie de maintenance est directement obtenue. Pour Escherichia coli B à 37°C, McGREW et MALLETTE (1962) trouvent ainsi une valeur de l'énergie de maintenance égale à 5.5 µg glucose par heure et par milligramme de biomasse. Ce résultat est important car il représente une véritable mesure de référence de l'énergie de maintenance.

4.2.1.4 MESURE A PARTIR DE CULTURES EN CUVEE

Cette méthode de mesure a été utilisée par MONOD (1941) pour exploiter de façon plus fine les manipulations qu'il avait déjà effectuées pour mettre en évidence l'existence de l'énergie de maintenance (culture en cuvée pour différents taux de croissance).

Dans une culture en cuvée, le substrat est consommé par les micro-organismes pour les besoins de la croissance et de la maintenance. On peut donc décomposer une quantité ΔS de substrat consommée en deux fractions, l'une pour la croissance ΔS_c et l'autre pour la maintenance ΔS_m :

$$\Delta S = \Delta S_c + \Delta S_m \qquad \text{[IV.1].}$$

La quantité de substrat consommé pour la croissance entre un instant t et t_o est directement proportionnelle à l'accroissement de la biomasse,

$$\Delta S_c = \frac{1}{R_{max}} (B(t) - B(t_o)) \qquad \text{[IV.2],}$$

où B(t) représente la biomasse présente à l'instant t, $B(t_o)$ la biomasse à l'instant t_o et R_{max} le rendement théorique maximum de la conversion du substrat en biomasse, c'est à dire le rendement que l'on observerait effectivement si l'énergie

de maintenance était nulle.

La quantité de substrat consommée pour la maintenance est proportionnelle à chaque instant à la biomasse présente, et donc entre un instant t_o et t à la surface sous la courbe de croissance,

$$\Delta S_m = m \int_{t_o}^{t} B(u)du \qquad \text{(IV.3)},$$

où le coefficient de proportionnalité m est une mesure de l'intensité de l'énergie de maintenance : il a les dimensions d'une quantité de substrat consommée par unité de temps et par unité de biomasse.

En substituant les équations [IV.2] et [IV.3] dans l'équation [IV.1] on obtient une relation,

$$\Delta S = \frac{1}{R_{max}} (B(t) - B(t_o)) + m \int_{t_o}^{t} B(u)du \qquad \text{[IV.4]},$$

qui permettrait de calculer la valeur de l'énergie de maintenance si le paramètre R_{max} était connu. Or, pour pouvoir estimer R_{max} à partir de cultures en cuvée, il faut que l'énergie de maintenance soit nulle. C'est là tout le problème que pose l'exploitation cette relation.

En prenant une valeur raisonnable de 0.33 pour R_{max}, MONOD (1941) trouve une valeur maximale admissible de 5 mg de lactate par heure et par milligramme de biomasse pour Escherichia coli.

4.2.1.5 MESURE A PARTIR DE CULTURES EN CONTINU

La relation développée par PIRT (1965) est sans doute celle qui est la plus couramment utilisée aujourd'hui car elle est facilement exploitable avec les résultats des cultures en continu. Elle part du même bilan de masse que celui utilisé dans l'équation [IV.1] mais l'exprime sous une forme différentielle :

$$\frac{ds}{dt} = \frac{-\mu B}{R} = \left(\frac{ds}{dt}\right)_c + \left(\frac{ds}{dt}\right)_m \qquad \text{[IV.5]},$$

où μ représente le taux de croissance de la population et R le rendement apparent de la conversion du substrat en biomasse.

De façon analogue au cas précédent, les équations [IV.2] et [IV.3] peuvent s'exprimer sous une forme différentielle,

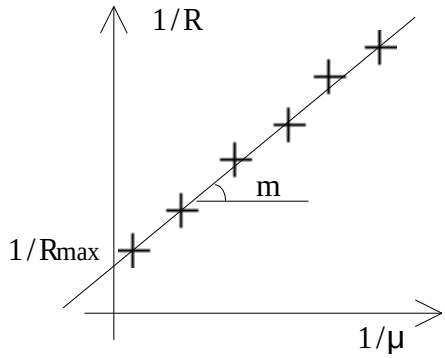
$$\left(\frac{ds}{dt}\right)_c = \frac{-\mu B}{R_{max}} \qquad [IV.6]$$

$$\left(\frac{ds}{dt}\right)_m = -m\,B \qquad [IV.7],$$

ce qui permet d'établir la relation,

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{R_{max}} + \frac{m}{\mu} \qquad [IV.8],$$

permettant de déterminer la valeur de l'énergie de maintenance. Cette relation est le plus souvent exploitée graphiquement comme ci-contre.



Pour mémoire, une approche similaire avait été développée par MARR et al. (1963) mais comme le fait remarquer PIRT (1965) leur conception de la maintenance en tant que 'métabolisme endogène' les a conduit à représenter cette dernière par une croissance négative, ce qui est un artifice source de confusions.

4.2.1.6 SON IMPORTANCE QUANTITATIVE

Pour Escherichia coli à 37°C, la valeur de 6.8 μg de glucose par heure et par milligramme de biomasse obtenue par WALLACE (1986) est voisine de la valeur de référence de 5.5 μg de glucose par heure et par milligramme de biomasse de McGREW et MALLETTE (1962). Pour d'autres espèces, ou dans d'autres conditions de cultures, les valeurs de l'énergie de maintenance sont très variables (deux ordres de grandeur *cf.* annexe 6.12). Ce qui importe ici, est de savoir si l'énergie de maintenance peut être négligée dans des conditions normales. Dans le cas de Escherichia coli poussant dans un milieu synthétique pauvre (milieu M63 à 0.1 g glucose.l^{-1}) la croissance est décrite, en première approximation , par une exponentielle tronquée,

$$B(t) = \mathrm{Inf}\ \{\ B_o\, e^{\mu_{max} t}\ ,\ B_m\ \} \qquad [IV.9],$$

avec $\mu_{max} \approx 1.0\ h^{-1}$, $B_o \approx 5.\ 10^6$ cellules.$ml^{-1} \approx 5.10^{-3}$ mg.ml^{-1}, $B_m \approx 10^8$ cellules.$ml^{-1} \approx 10^{-1}$ mg.ml^{-1}. Pour une valeur de l'énergie de maintenance égale à 5.0 μg de glucose par heure et par milligramme de biomasse, la quantité de glucose dépensée pour un volume de culture de 1 ml est de l'ordre de 4.8 μg. Ceci revient à dire que moins de 5% de la quantité initiale de glucose est détournée de la croissance. Dans ces conditions, la quantité de substrat consommée pour la maintenance de la population peut effectivement être négligée par rapport à celle qui est consommée pour la croissance.

4.1.3 CONSEQUENCES PRATIQUES

4.1.3.1 DEDUCTION DE LA CONCENTRATION EN SUBSTRAT

L'énergie de maintenance étant négligeable dans des conditions normales de croissance, on peut simplifier l'équation [IV.1] en supprimant le terme correspondant à la quantité de substrat consommée pour la maintenance de la population,

$$\Delta S = \Delta S_c \qquad \text{[IV.10].}$$

Par un simple bilan de masse, ceci permet de déduire la concentration en substrat à tout instant en ne connaissant que la concentration initiale en substrat et la biomasse finale :

$$s(t) = s_o \frac{B_m - B(t)}{B_m - B_o} \qquad \text{[IV.11].}$$

Il est ainsi possible, quand on ne dispose que du suivi de la biomasse, d'estimer les paramètres des modèles de croissance pour lesquels la connaissance de la concentration en substrat limitant est une condition sine qua non.

Mais cela n'est plus vrai si la population est soumise à un stress. Plus spécifiquement, en présence d'un antibiotique, et ce quel que soit son mode d'action, il est clair que l'énergie de maintenance ne peut plus être négligée. Par exemple, en présence d'un antibiotique bactéricide, une fraction du substrat va être utilisée pour produire des individus destinés à mourir, et être donc détournée de la croissance.

4.1.3.2 MESURE EN PRESENCE D'ANTIBIOTIQUES

Principe

L'effet des antibiotiques étant classiquement étudié de par leur effet sur une culture en cuvée, il est tentant de déterminer la valeur de l'énergie de maintenance avec les relations utilisées par MONOD (1941) pour quantifier l'efficacité d'un antibiotique.

En négligeant l'énergie de maintenance du témoin sans antibiotique et la contribution de l'inoculum dans l'accroissement final de la biomasse, la valeur du rendement théorique maximum est alors égale à :

$$R_{max} = \frac{B_m^o}{S_o} \qquad \text{[IV.12],}$$

où B_m^o représente la biomasse maximale obtenue pour le témoin quand le substrat est épuisé, et S_o la quantité initiale de substrat.

Ce qui nous permet d'établir à partir de l'équation [IV.4], toujours en négligeant la contribution des inoculums, la formule utilisée pour calculer l'énergie de maintenance,

$$m = \frac{S_o (B_m^o - B_m^c)}{B_m^o \int_{t_o}^{t} B^c(u)du} \qquad \text{[IV.13],}$$

où B^c_m représente la biomasse maximale obtenue en présence d'antibiotique, $B^c(u)$ la courbe de croissance de la biomasse en présence d'antibiotiques, t_o le temps initial et t le temps pour lequel B^c_m est atteint.

La valeur de l'intégrale peut être approchée en intégrant numériquement les données expérimentales, par exemple par la méthode des trapèzes,

$$\int_{t_o}^{t} B^c(u)du \approx \Delta t[\frac{1}{2}(B^c_1 + B^c_n) + \sum_{i=2}^{n-1} B^c_i \ ] \qquad \text{[IV.14]},$$

où B^c_1, B^c_2, … B^c_i …, B^c_n représentent les n observations de la biomasse entre t_o et t avec un pas d'échantillonnage temporel fixe égal à Δt.

Exemple

Pour Escherichia coli ATCC 25922 en présence d'une concentration de Nétilmicine de 0.2 mg.l^{-1} les résultats bruts suivants ont été obtenus.

Temps t mn	Nétilmicine B_i^c *	Témoin B_i^- *	Temps t mn	Nétilmicine B_i^c *	Témoin B_i^o *
320	.0000	.0000	460	.0088	.0165
325	.0000	.0000	465	.0097	.0184
330	.0000	.0000	470	.0110	.0210
335	.0004	.0002	475	.0122	.0235
340	.0004	.0004	480	.0140	.0264
345	.0004	.0006	485	.0148	.0294
350	.0004	.0006	490	.0166	.0329
355	.0004	.0006	495	.0187	.0371
360	.0008	.0012	500	.0213	.0414
365	.0008	.0014	505	.0235	.0461
370	.0008	.0014	510	.0266	.0514
375	.0013	.0018	515	.0302	.0574
380	.0013	.0023	520	.0342	.0640
385	.0013	.0023	525	.0387	.0719
390	.0013	.0027	530	.0442	.0817
395	.0021	.0033	535	.0503	.0879
400	.0017	.0037	540	.0578	.0872
405	.0021	.0041	545	.0631	.0867
410	.0025	.0045	550	.0655	.0864
415	.0029	.0054	555	.0665	.0859
420	.0038	.0062	560	.0665	.0854
425	.0038	.0068	565	.0669	.0857
430	.0042	.0076	570	.0669	.0852
435	.0050	.0091	575	.0669	.0849
440	.0059	.0101	580	.0669	.0844
445	.0059	.0112	585	.0665	.0842
450	.0071	.0129	590	.0660	.0834
455	.0080	.0146	595	.0660	.0832

* Sans dimension : contribution de la biomasse à l'absorbance du milieu (Log I_0/I) pour un trajet optique de 1.3 cm.

La biomasse maximale est atteinte à t=535 mn pour le témoin sans antibiotique et à t=565 mn en présence de Nétilmicine. Les valeurs suivantes ont donc été utilisées pour le calcul de l'énergie de maintenance :

B_m^o = 0.0879 UA (Unités d'absorbance)

B_m^c = 0.0669 UA (Unités d'absorbance)

S_o = 0.1 mg de glucose (1 ml de milieu M63 à 0.1 g.l^{-1})

$$\Delta t[\ \frac{1}{2}(B_1^c + B_n^c) + \sum_{i=2}^{49} B_i^c\ ] = 5[\ \frac{1}{2}(0.0000 + 0.0669) + 0.7586] = 3.96 \text{ UA.mn}$$

$$m = \frac{0.1\ (0.0879 - 0.0669)}{(0.0879)\ (3.96)} = 6.03\ 10^{-3} \text{ mg Glc mn}^{-1} \text{ UA}^{-1}$$

Avec ces unités, il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la littérature. Pour être plus conforme, il est préférable de se rapporter à une unité de temps égale à l'heure, et donc de multiplier la valeur précédente par 60 :

$$m = 3.62\ 10^{-1} \text{ mg Glc h}^{-1} \text{ UA}^{-1}$$

De même, il est plus parlant d'exprimer la biomasse en milligrammes. Dans le cas du MS2 et pour Escherichia coli on a approximativement 1 UA ≈ 5 10^8 cellules.ml^{-1} ≈ 0.5

$mg.ml^{-1}$. En multipliant donc la valeur précédente par 2, des unités standard sont obtenues :

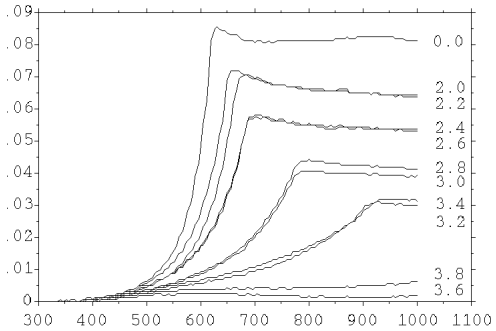
$$m = 0.72 \text{ mg Glucose } h^{-1} \text{ (mg biomasse)}^{-1}$$

Dans cet exemple, l'énergie de maintenance en présence d'antibiotique est supérieure de deux ordres de grandeur à celle rapportée pour Escherichia coli dans des conditions normales de culture, en l'absence de stress.

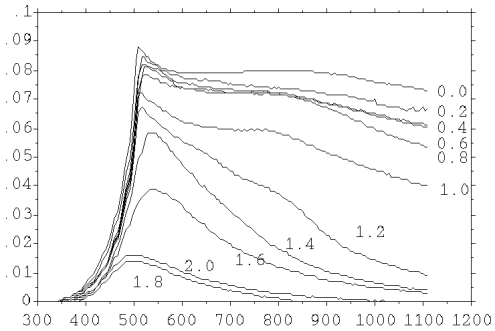
Fig. 4.3

Escherichia coli ATCC 25922

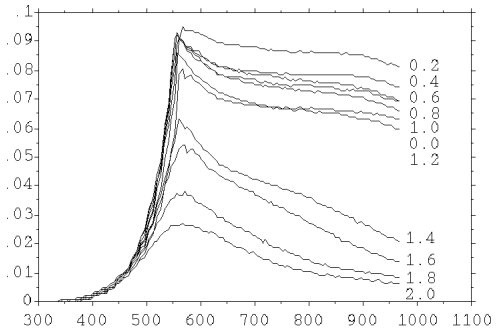
Croissance de *Escherichia coli* ATCC 25922 en présence de concentrations subinhibitrices d'antibiotique dans le milieu M63 à 0.1 g de glucose par litre. Le temps est gradué en minutes et la biomasse est donnée par l'absorbance du milieu à 670 nm pour un trajet optique de 1.3 cm. Les concentrations en antibiotique sont indiquées à coté de chaque courbe en mg/l.



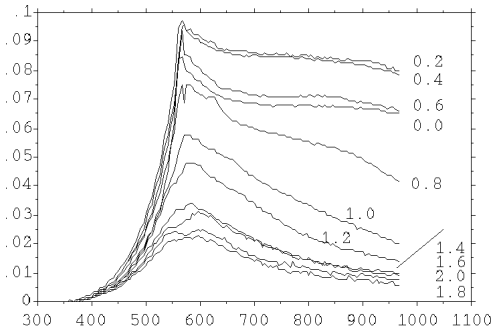
Amikacine



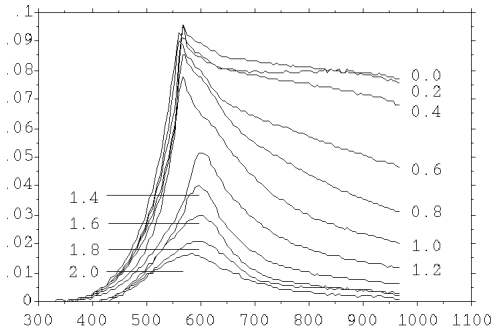
Amoxicilline



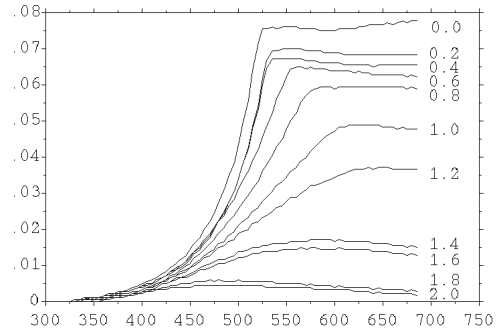
Ampicilline



Céfalotine



Céfoxitine

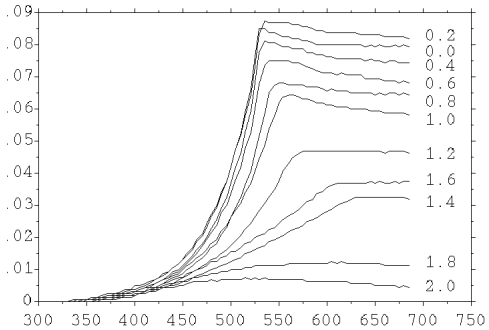


Dibékacine

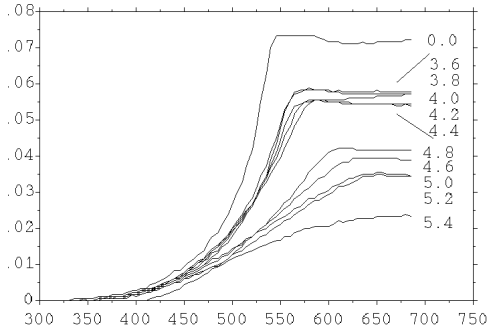
Fig. 4.4

Escherichia coli ATCC 25922 (suite)

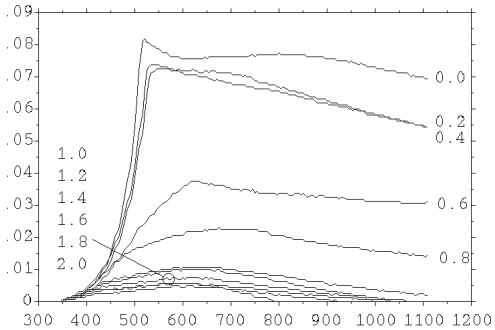
Croissance de *Escherichia coli* ATCC 25922 en présence de concentrations subinhibitrices d'antibiotique dans le milieu M63 à 0.1 g de glucose par litre. Le temps est gradué en minutes et la biomasse est donnée par l'absorbance du milieu à 670 nm pour un trajet optique de 1.3 cm. Les concentrations en antibiotique sont indiquées à coté de chaque courbe en mg/l.



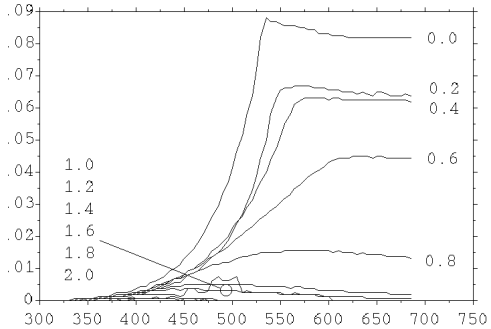
Habékacine



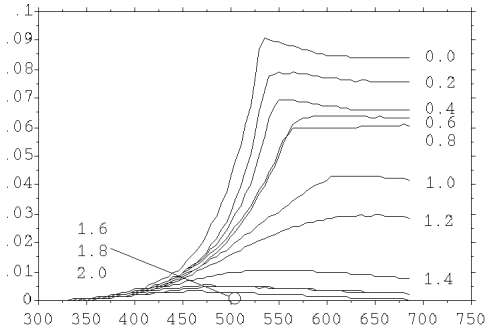
Kanamycine



Acide Nalidixique



Nétilmicine

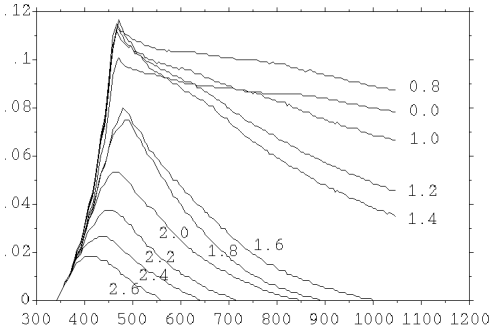


Tobramycine

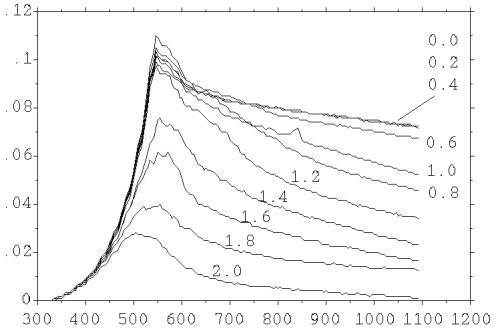
Fig. 4.5

Escherichia coli ATCC 29194

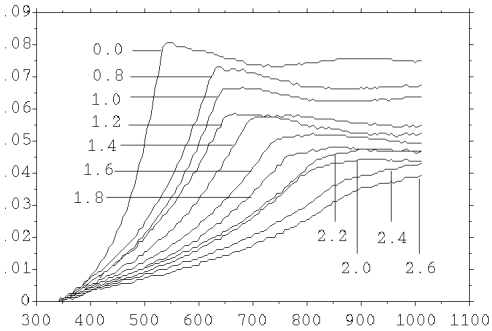
Croissance de *Escherichia coli* ATCC 29194 en présence de concentrations subinhibitrices d'antibiotique dans le milieu M63 à 0.1 g de glucose par litre. Le temps est gradué en minutes et la biomasse est donnée par l'absorbance du milieu à 670 nm pour un trajet optique de 1.3 cm. Les concentrations en antibiotique sont indiquées à coté de chaque courbe en mg/l.



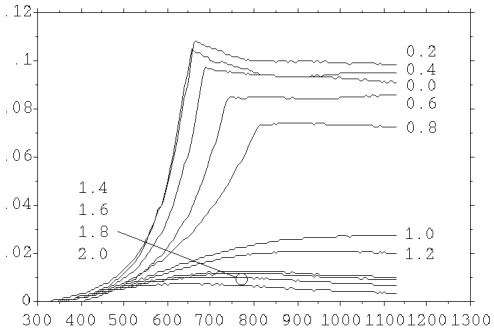
Amoxicilline



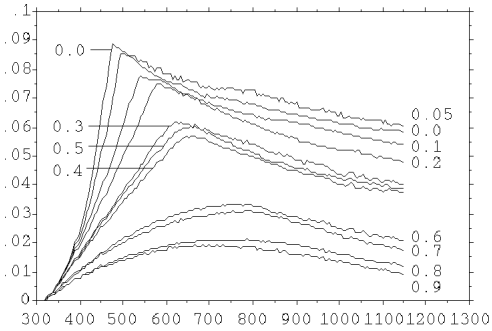
Ampicilline



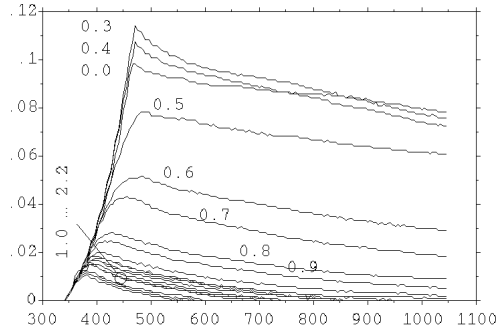
Chloramphénicol



Dibékacine



Doxycycline

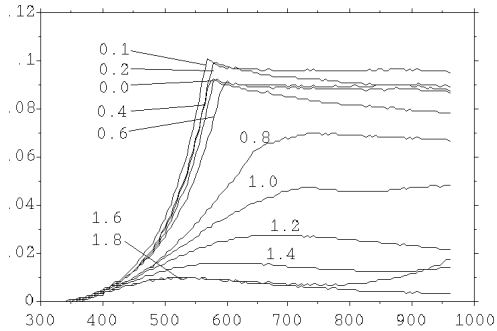


Acide Nalidixique

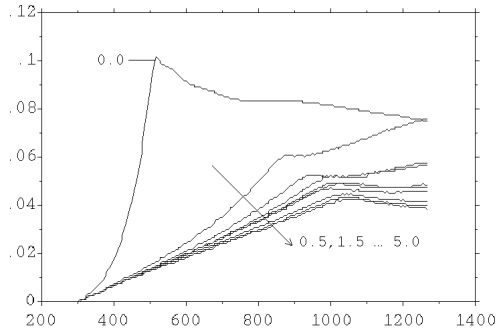
Fig. 4.6

Escherichia coli ATCC 29194 (suite)

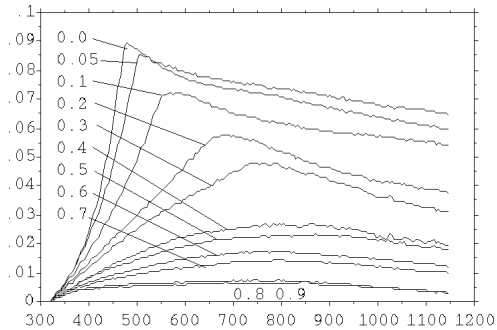
Croissance de *Escherichia coli* ATCC 29194 en présence de concentrations subinhibitrices d'antibiotique dans le milieu M63 à 0.1 g de glucose par litre. Le temps est gradué en minutes et la biomasse est donnée par l'absorbance du milieu à 670 nm pour un trajet optique de 1.3 cm. Les concentrations en antibiotique sont indiquées à coté de chaque courbe en mg/l.



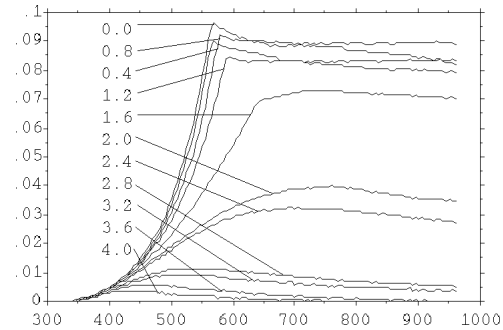
Nétilmicine



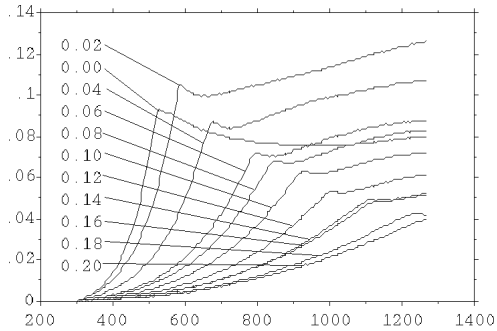
Sulfaméthoxazole



Tétracycline



Tobramycine



Triméthoprime

4.2 ENERGIE DE MAINTENANCE EN PRESENCE D'ANTIBIOTIQUES

4.2.1 DIFFICULTES RENCONTREES

4.2.1.1 MEILLEUR RENDEMENT EN PRESENCE D'ANTIBIOTIQUES

Pour les très faibles concentrations en antibiotique, il peut arriver que le rendement apparent en présence d'antibiotique soit supérieur à celui du témoin. Ce phénomène a été observé pour Escherichia coli ATCC 25922 avec l'ampicilline, la céfalotine et l'habékacine ; pour Escherichia coli ATCC 29194 avec l'amoxicilline, la dibékacine, l'acide nalidixique, la nétilmicine et le triméthoprime. Deux explications non exclusives de cet effet apparemment paradoxal[1] peuvent être avancées : i) aux faibles concentrations l'antibiotique inhibe préférentiellement la croissance des individus ayant un mauvais rendement ce qui améliore le rendement global de la population ii) on apporte avec l'antibiotique un ou plusieurs micro-éléments[2] qui augmentent le rendement de la croissance car les cellules peuvent alors faire l'économie des voies de synthèse correspondantes.

Quelles que soient les raisons de cet effet paradoxal, les courbes de croissance obtenues pour ces concentrations ne sont plus exploitables pour calculer l'énergie de maintenance, elles ont donc été écartées.

4.2.1.2 INVERSIONS DE CONCENTRATIONS

Les pas de concentration utilisés étant extrêmement serrés, on ne maîtrise pas parfaitement la concentration en antibiotique. Il peut arriver, sans doute à cause d'un manque de précision des pompes de transfert de l'appareillage utilisé, que les courbes obtenues soient inversées : un meilleur rendement apparent est obtenu avec une concentration plus élevée (e.g. pour Escherichia coli ATCC 25922 avec l'amikacine à 3.4 et 3.2 $mg.l^{-1}$, l'amoxicilline à 1.8 et 2.0 $mg.l^{-1}$, le céfalotine à 1.8 et 2.0 $mg.l^{-1}$, l'habékacine à 1.4 et 1.6 $mg.l^{-1}$, la kanamycine à 4.6 et 4.8 $mg.l^{-1}$; pour Escherichia coli ATCC 29194 avec l'ampicilline à 0.8 et 1.0 $mg.l^{-1}$, le chloramphénicol à 2.0 et 2.2 $mg.l^{-1}$, la doxycycline à 0.4 et 0.5 $mg.l^{-1}$).

4.2.1.3 NECESSITE D'UNE MAITRISE MINIMALE DU MILIEU

Pour pouvoir exploiter l'équation [IV.13] il faut connaître la quantité initiale de substrat limitant présente dans le milieu de culture. Ceci contraint à utiliser un milieu de croissance synthétique, ou tout du moins un milieu pour lequel la nature et la concentration initiale du substrat limitant sont connues. Cette contrainte n'est pas anodine car la grande majorité des études de l'effet des antibiotiques sur la croissance est conduite avec des bouillons de culture non définis.

---

[1] au sens originel du terme, à ne pas confondre avec l'effet paradoxal des quinolones

[2] Les antibiotiques ne sont qu'exceptionnellement commercialisés sous une forme cristalline pure car ils sont le plus souvent le produit d'hémisynthèses complexes.

4.2.1.4 EPUISEMENT DU SUBSTRAT EN PRESENCE D'ANTIBIOTIQUES

Pour calculer l'énergie de maintenance, il faut déterminer les bornes d'intégration pour calculer l'aire sous la courbe de croissance, et en particulier la borne finale correspondant à l'épuisement du substrat. En l'absence d'antibiotique le substrat est épuisé quand la biomasse maximale est atteinte. Par contre, en présence d'antibiotique, rien ne garantit que la biomasse maximale corresponde à l'épuisement du substrat. Si on se place dans le cas extrême où la population initiale est éradiquée dès la mise en contact avec l'antibiotique, il est évident que la concentration initiale en substrat ne sera pas modifiée. Cependant, il faut bien voir que l'on travaille ici avec des concentration sub-inhibitrices d'antibiotique et qu'une partie du substrat initial sera nécessairement consommée. La question est donc d'avoir une idée de la quantité de substrat consommée lorsque l'on atteint la biomasse maximale.

Les résultats expérimentaux suivants (in MOUSSEAU 1985) donnent le pourcentage de glucose consommé à la fin de la croissance exponentielle du témoin (Escherichia coli K12 CIP 54117) pour différentes concentrations sub-inhibitrices d'antibiotique. La croissance étant retardée en présence des concentrations sub-inhibitrices utilisées, ces pourcentages correspondent à des valeurs minimales. Une fraction importante du substrat initial est toujours consommée en présence d'antibiotique, mais on ne peut apprécier que difficilement l'erreur commise parce que les courbes de croissance ne sont pas disponibles. Notons seulement que dans le cas extrême le plus défavorable (Dibékacine à 3.2 $mg.l^{-1}$), la valeur de l'énergie de maintenance ne peut pas être surestimée plus que d'un facteur 4.

Glucose consommé en fin de croissance exponentielle du témoin

[] $mg.l^{-1}$	K	AN	[] $mg.l^{-1}$	DKB	GEM	NET	TM
0.0	100%	100%	0.0	100%	100%	100%	100%
2.0	100%	100%	0.2	98%	100%	100%	99%
2.2	100%	100%	0.4	91%	60%	89%	99%
2.4	100%	100%	0.6	54%	53%	49%	98%
2.6	100%	100%	0.8	45%	42%	37%	73%
2.8	100%	100%	1.0	42%	35%	31%	68%
3.0	100%	99%	1.2	35%	32%	28%	59%
3.2	89%	94%	1.4	25%	32%	26%	47%
3.4	97%	100%	1.6	33%	31%	27%	34%
3.6	86%	97%	1.8	33%	26%	27%	40%
3.8	74%	53%	2.0	25%	31%	32%	41%

[] : concentration en antibiotique, K : Kanamycine, AN : Amikacine, DKB : Dibékacine, GEM : Gentamicine, NET : Nétilmicine, TM : Tobramycine.

4.2.2 RESULTATS

Les courbes de croissance exploitées ici sont présentées dans les figures 4.3 à 4.6. Elles concernent la croissance de deux souches de collection de Escherichia coli en présence de 11 antibiotiques pour pour chaque souche, avec 6 antibiotiques communs aux deux souches. Le milieu de culture est toujours le milieu M63 avec comme substrat limitant le glucose à raison de 0.1 $g.l^{-1}$. L'aspect général des courbes, une diminution du rendement apparent avec les concentrations croissantes d'antibiotiques, correspond bien à ce qui a été rapporté par ailleurs (e.g. SHAH et al. 1976, ULLMANN 1971, YOURASSOWSKY et al. 1981, 1985, KATARAO et al. 1988). Les valeurs de l'énergie de maintenance ont été calculées comme dans l'exemple précédent, les résultats obtenus sont rassemblés dans les deux tableaux suivants.

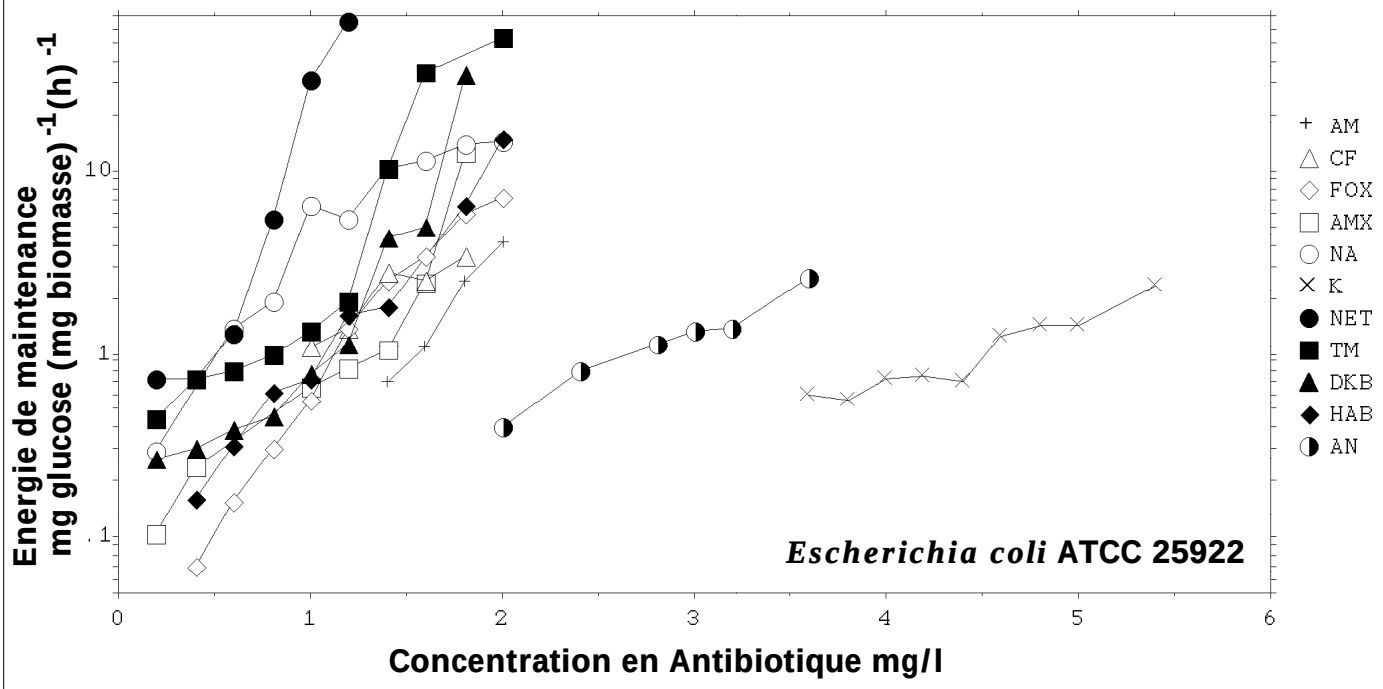
Escherichia coli ATCC 25922
Energie de maintenance [mg glucose (mg biomasse)$^{-1}$ h^{-1}]

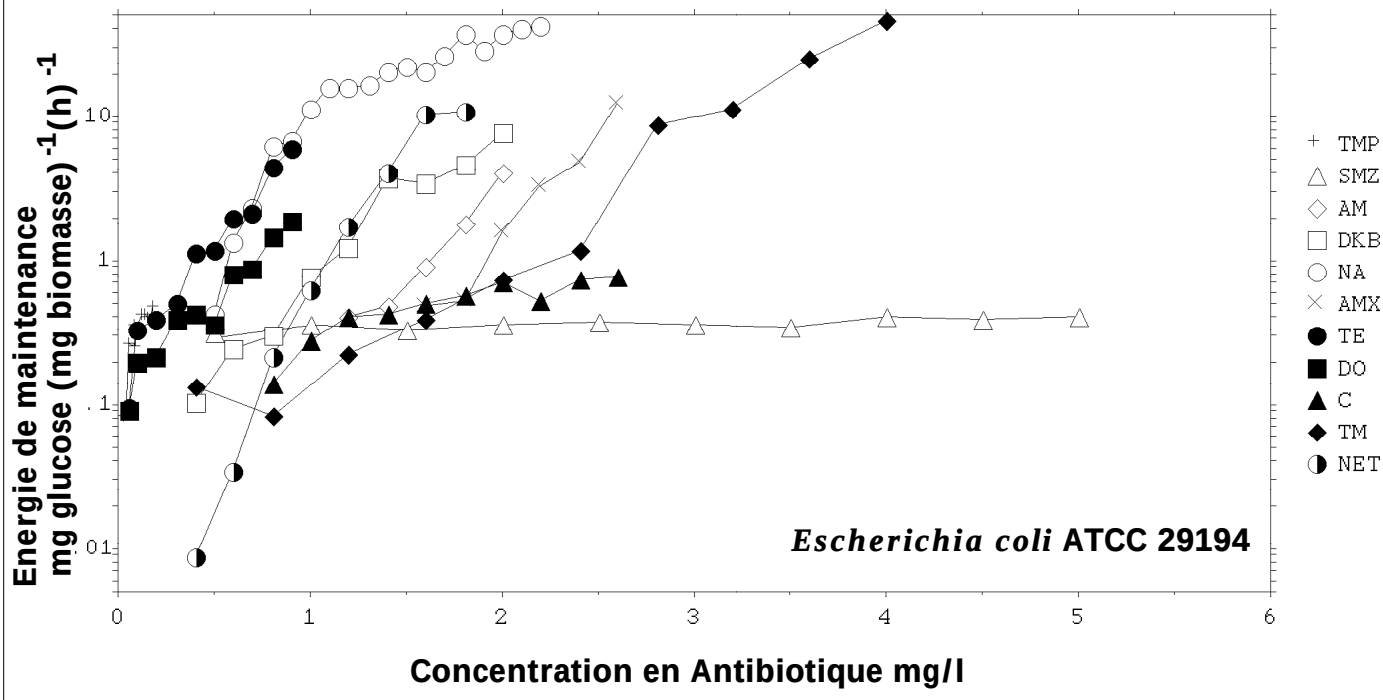
[]	AM	CF	FOX	AMX	NA	K	NET	TM	DKB	HAB	AN
.2	-	-	-	.10	.29	-	.72	.44	.27	-	-
.4	-	-	.07	.24	-	-	.74	.72	.31	.16	-
.6	-	-	.16	-	1.36	-	1.31	.81	.39	.31	-
.8	-	-	.31	-	1.95	-	5.56	1.00	.46	.62	-
1.0	-	1.10	.55	.66	6.40	-	31.24	1.32	.77	.73	-
1.2	-	1.41	1.38	.83	5.40	-	64.94	1.92	1.12	1.61	-
1.4	.72	2.83	2.55	1.06	10.41	-	-	10.42	4.35	1.79	-
1.6	1.10	2.49	3.37	2.48	11.52	-	-	34.14	5.00	-	-
1.8	2.50	3.44	5.91	12.78	13.82	-	-	-	33.81	6.51	-
2.0	4.09	-	7.09	-	14.33	-	-	53.30	-	15.09	.40
2.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	.82
2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.13
3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.35
3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.40
3.6	-	-	-	-	-	.60	-	-	-	-	2.63
3.8	-	-	-	-	-	.56	-	-	-	-	-
4.0	-	-	-	-	-	.73	-	-	-	-	-
4.2	-	-	-	-	-	.75	-	-	-	-	-
4.4	-	-	-	-	-	.71	-	-	-	-	-
4.6	-	-	-	-	-	1.27	-	-	-	-	-
4.8	-	-	-	-	-	1.44	-	-	-	-	-
5.0	-	-	-	-	-	1.42	-	-	-	-	-
5.4	-	-	-	-	-	2.37	-	-	-	-	-

[] : concentration en antibiotique [$mg.l^{-1}$], AM : Ampicilline, CF : Céfalotine, FOX : Céfoxitine, AMX : Amoxicilline, NA : Acide nalidixique, K : Kanamycine, NET : Nétilmicine, TM : Tobramycine, DKB : Dibékacine, HAB : Habékacine, AN : Amikacine.

Fig. 4.7

AUGMENTATION DE L'ENERGIE DE MAINTENANCE AVEC LA CONCENTRATION EN ANTIBIOTIQUE





Escherichia coli ATCC 29194

Energie de maintenance [mg glucose (mg biomasse)-1 h-1]

[]	TMP	SMZ	AM	DKB	NA	AMX	TE	DOC	TM	NET
.04	.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-
.05	-	-	-	-	-	-	.10	.09	-	-
.06	.26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
.08	.26	-	-	-	-	-	-	-	-	-
.10	.34	.21	-	-	-	-	.33	.20	-	-
.12	.42	-	-	-	-	-	-	-	-	-
.14	.43	-	-	-	-	-	-	-	-	-
.16	.40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
.18	.49	-	-	-	-	-	-	-	-	-
.20	-		-	-	-	-	.39	.21	-	-
.30	-		-	-	-	-	.50	.39	-	-
.40	-		-	.10	-	-	1.12	.42	-	.13	.01
.50	-	.26	-	-	.42	-	1.18	.35	-	-	-
.60	-		-	.24	1.31	-	1.95	.80	-	-	.03
.70	-		-	-	2.33	-	2.10	.88	-	-	-
.80	-		-	.30	6.10	-	4.44	1.46	.14	.08	.22
.90	-		-	-	6.76	-	5.98	1.90	-	-	-
1.0	-	.35	-	.75	11.10	-	-	-	.27	-	.62
1.1	-	-	-	-	15.94	-	-	-	-	-	-
1.2	-	-	.40	1.24	15.59	-	-	-	.41	.22	1.70
1.3	-	-	-	-	16.75	-	-	-	-	-	-
1.4	-	-	.49	3.73	20.75	-	-	-	.42	-	4.03
1.5	-	.33	-	-	21.91	-	-	-	-	-	-
1.6	-	-	.89	3.47	20.36	.48	-	-	.50	.39	10.40
1.7	-	-	-	-	25.84	-	-	-	-	-	-
1.8	-	-	1.83	4.60	37.76	.53	-	-	.56	-	10.60
1.9	-	-	-	-	28.58	-	-	-	-	-	-
2.0	-	.36	4.04	7.78	36.76	1.58	-	-	.70	.75	-
2.1	-	-	-	-	39.61	-	-	-	-	-	-
2.2	-	-	-	-	42.73	3.23	-	-	.52	-	-
2.4	-	-	-	-	-	4.84	-	-	.73	1.19	-
2.5	-	.37	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.6	-	-	-	-	-	12.23	-	-	.78	-	-
2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.64	-
3.0	-	.35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.26	-
3.5	-	.35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25.20	-
4.0	-	.41	-	-	-	-	-	-	-	46.72	-
4.5	-	.39	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	-	.40	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[] : concentration en antibiotique mg.l-1, TMP : Triméthoprime, SMZ : Sulfaméthoxazole, AM : Ampicilline, DKB : Dibékacine, NA : Acide nalidixique, AMX : Amoxicilline, TE : Tétracycline, DO : Doxycycline, C : Chloramphénicol, TM : Tobramycine, NET : Nétilmicine.

4.2.3 MODELISATION DE LA RELATION DOSE-EFFET

Comme en témoigne l'échelle logarithmique utilisée dans la figure 4.7, l'énergie de maintenance augmente très rapidement avec la concentration en antibiotique sauf dans le cas du triméthoprime, du chloramphénicol et de l'acide nalidixique où elle semble se stabiliser pour les plus fortes concentrations. Cette saturation de l'effet de l'antibiotique est discutable dans le cas du triméthoprime et du chloramphénicol dans la mesure où le retrait des premiers points expérimentaux conduirait à un bon alignement des points en coordonnées semi-logarithmiques. Par contre, le phénomène de saturation est net dans le cas de l'acide nalidixique, et il est de plus corroboré par son observation pour les deux souches étudiées.

4.2.3.1 MODELE EXPONENTIEL

Quand les points obtenus sont approximativement alignés en coordonnées semi-logarithmiques, il est tentant d'utiliser un modèle exponentiel pour résumer les données. L'hypothèse sous-jacente du modèle exponentiel est que l'augmentation de l'énergie de maintenance par rapport à la concentration en antibiotique est proportionnelle à l'énergie de maintenance,

$$\frac{dm}{dc} = \lambda m \qquad \text{[IV.14]}$$

ce qui cohérent avec un effet cumulatif de l'antibiotique : la population bactérienne est d'autant sensible qu'elle est déjà atteinte. Sous sa forme intégrée le modèle exponentiel s'écrit classiquement :

$$m(c) = m_0 e^{\lambda c} \qquad \text{[IV.15]}$$

avec m(c) l'énergie de maintenance pour une concentration c en antibiotique, mo l'énergie de maintenance en l'absence d'antibiotique, et λ un paramètre qui est d'autant plus élevé que l'antibiotique est efficace.

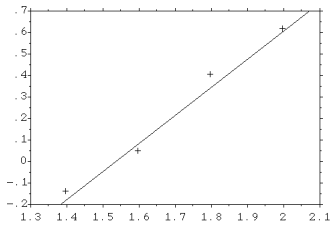
Pour estimer les paramètres il est préférable de passer aux logarithmes pour ne pas accorder trop de poids aux points expérimentaux correspondant aux plus fortes valeurs de l'énergie de maintenance.

$$\text{Log } m(c) = \text{Log } m_o - \lambda\, c \qquad \text{[IV.16]}$$

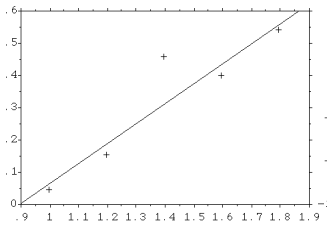
Fig. 4.8

AJUSTEMENTS DU MODELE EXPONENTIEL

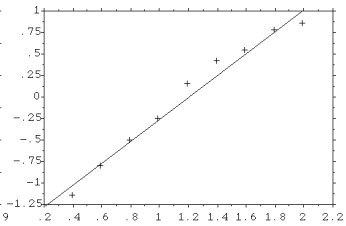
Représentation du logarithme de l'énergie de maintenance en fonction de la concentration en antibiotique. L'ajustement au modèle exponentiel représenté ici par les segments de droites a été obtenu par régression linéaire.



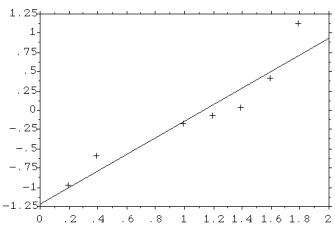
25922 Ampicilline



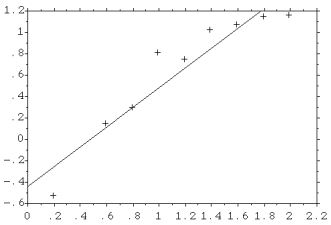
25922 Céfalotine



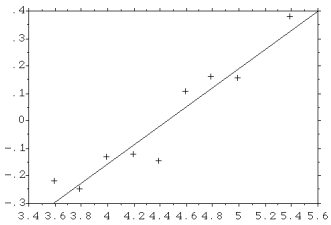
25922 Céfoxitine



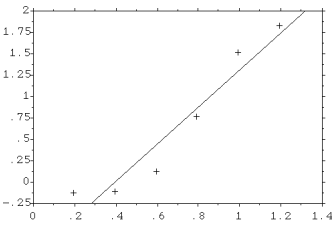
25922 Amoxicilline



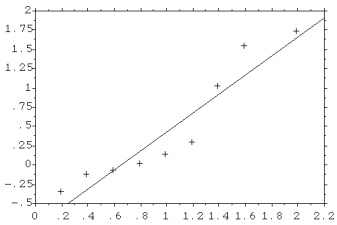
25922 A. Nalidixique



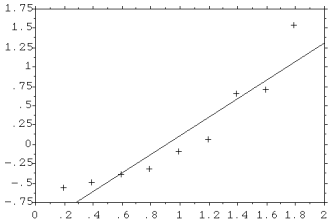
25922 Kanamycine



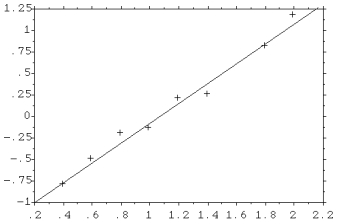
25922 Nétilmicine



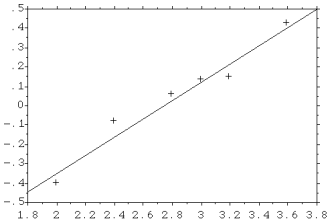
25922 Tobramycine



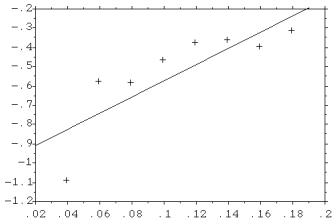
25922 Dibékacine



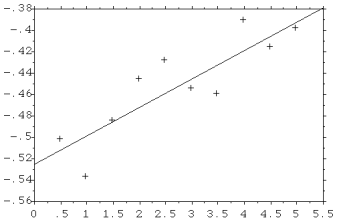
25922 Habékacine



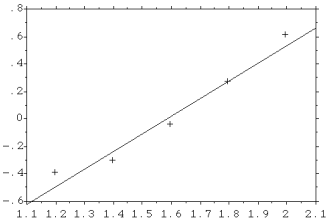
25922 Amikacine



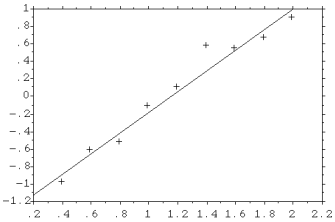
29194 Triméthoprime



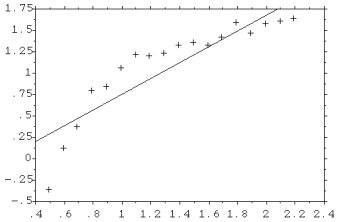
29194 Sulfaméthoxazole



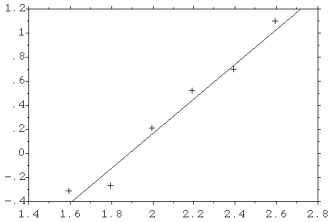
29194 Ampicilline



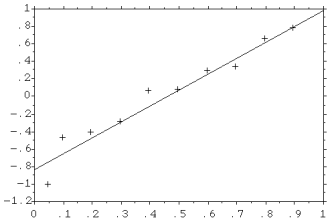
29194 Dibékacine



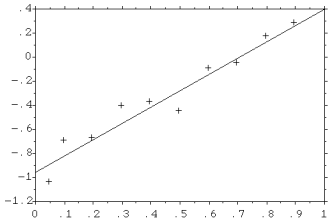
29194 A. Nalidixique



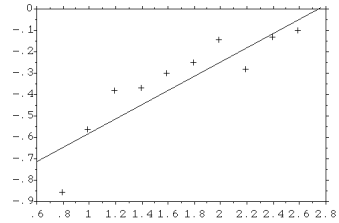
29194 Amoxicilline



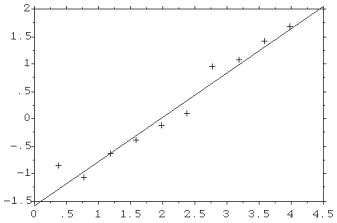
29194 Tétracycline



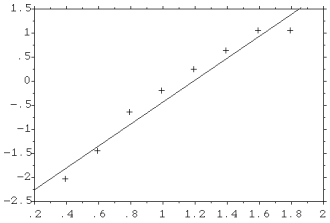
29194 Doxycycline



29194 Chloramphénicol



29194 Tobramycine



29194 Nétilmicine

Les valeurs des paramètres ainsi obtenues sont résumées dans le tableau ci-dessous, et les ajustements correspondants représentés dans la figure 4.8.

Paramètres du modèle exponentiel			
	Log m_o	λ [$mg^{-1}.l$]	r^2
ATCC 25922			
AM	-2.0 [-2.8,-1.2]	1.31 [0.83,1.80]	0.985
CF	-0.55 [-1.17,0.08]	0.62 [0.17,1.07]	0.865
FOX	-1.6 [-1.8,-1.4]	1.30 [1.12,1.47]	0.978
AMX	-1.2 [-1.7,-0.8]	1.07 [0.65,1.49]	0.896
NA*	-0.44 [-0.78,-0.10]	0.92 [0.64,1.21]	0.892
K	-1.6 [-2.0,-1.1]	0.35 [0.25,0.45]	0.907
NET	-0.9 [-1.5,-0.3]	2.18 [1.33,3.03]	0.927
TM	-0.8 [-1.2,-0.4]	1.24 [0.87,1.62]	0.896
DKB	-1.1 [-1.5,-0.7]	1.21 [0.80,1.62]	0.875
HAB	-1.2 [-1.4,-1.1]	1.16 [1.02,1.30]	0.985
AN	-1.3 [-1.7,-0.90]	0.47 [0.34,0.60]	0.962
ATCC 29194			
TMP*	-1.0 [-1.3,-0.7]	4.25 [1.37,7.14]	0.685
SMZ	-0.52 [-0.56,-0.49]	0.03 [0.01,0.86]	0.743
AM	-2.0 [-2.8,-1.3]	1.29 [0.82,1.75]	0.963
DKB	-1.4 [-1.6,-1.1]	1.18 [0.97,1.39]	0.963
NA*	-0.2 [-0.5,0.2]	0.93 [0.67,1.18]	0.791
AMX	-2.8 [-3.5,-2.0]	1.46 [1.12,1.81]	0.972
TE	-0.8 [-1.0,-0.7]	1.82 [1.46,2.18]	0.945
DO	-1.0 [-1.1,-0.8]	1.35 [1.07,1.64]	0.938
C*	-0.9 [-1.2,-0.7]	0.34 [0.19,0.48]	0.784
TM	-1.6 [-1.9,-1.3]	0.81 [0.67,0.94]	0.959
NET	-2.7 [-3.2,-2.2]	2.28 [1.80,2.75]	0.958

* Mauvais ajustement du modèle exponentiel.

Dans la plupart des cas, le modèle exponentiel est suffisant pour résumer la tendance générale de l'augmentation de l'énergie de maintenance avec la concentration en antibiotique. Comme en témoignent les coefficients de corrélation linéaire, le modèle exponentiel explique toujours de l'ordre de 90% de la variance.

Il est intéressant d'examiner les valeurs obtenues pour l'énergie de maintenance en l'absence d'antibiotique (m_o). Ces valeurs sont peu précises car elles correspondent à une extrapolation de la tendance observée en dehors du domaine d'étude. La valeur médiane (Log m_o = -1.6) correspond à une énergie de maintenance de 25 µg glucose.(mg biomasse)$^{-1}$.h^{-1}, soit cinq fois plus que la valeur de référence de McGREW et MALLETTE (1962), ce qui est un ordre de grandeur correct pour des expériences qui n'ont pas été optimisées dans le sens de la mesure de m_o. Le comportement aux limites du modèle exponentiel ne paraît donc pas aberrant.

Si le modèle exponentiel exprime vraiment la relation entre la concentration en antibiotique et l'énergie de maintenance, alors il faut s'attendre à une dépendance entre la valeur du paramètre λ et la zone de concentration utile correspondant à la fenêtre d'observabilité du phénomène. Par exemple, dans le cas présent, l'énergie de maintenance n'est accessible à la mesure que pour des valeurs comprises, au maximum, entre 0.01 et 100 mg glucose.(mg biomasse)$^{-1}$.h^{-1}, avec un pic au voisinage de 1.0 mg

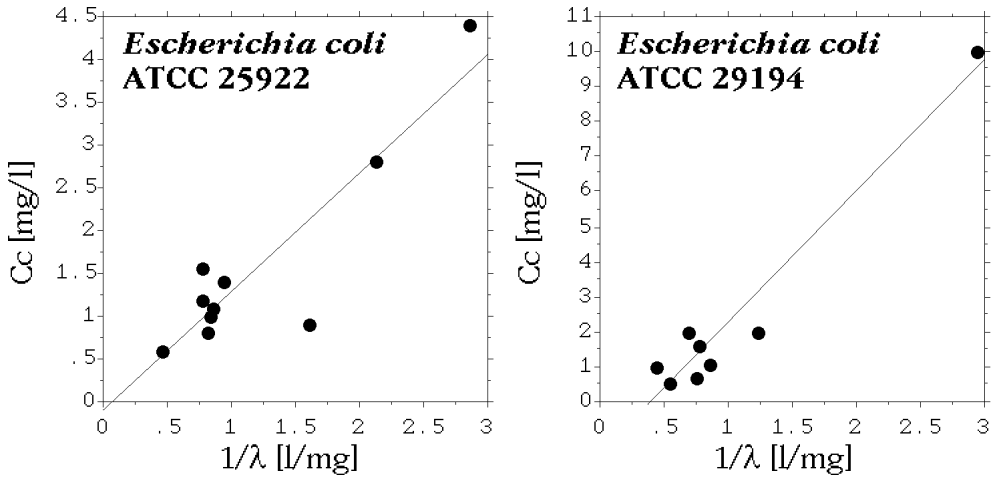
glucose.(mg biomasse)$^{-1}$.h^{-1}. En conséquence, la concentration en antibiotique critique c_c telle que l'énergie de maintenance soit égale à 1.0 mg glucose.(mg biomasse)$^{-1}$.h^{-1} donne une idée assez précise de la zone de concentration utile, là où l'on observe une croissance ni trop ni trop peu inhibée. Si le modèle était exponentiel on aurait alors,

$$\text{Log } m(c_c) = \text{Log } m_o - \lambda\, c_c \qquad \text{[IV.17]},$$

et donc :

$$c_c = \frac{\text{Log } m_o}{\lambda} \qquad \text{[IV.18]}.$$

Comme m_o est censé être constant pour une souche donnée, on s'attend à ce que λ et c_c soient inversement proportionnels, ce qui est l'occasion de tester sur l'ensemble des antibiotiques la valeur de ce modèle. Cette validation est indépendante de la bonne qualité des ajustements individuels obtenus précédemment. Les valeurs de c_c on été déterminées graphiquement et reportées ici en fonction de l'inverse du paramètre λ :



La relation attendue est bien observée. Il se faut se garder cependant d'interpréter les valeurs des coefficients de corrélation linéaire (r^2 = 0.810 pour Escherichia coli ATCC 25922 et r^2 = 0.945 pour Escherichia coli ATCC 29194) comme une confirmation solide du modèle exponentiel : la forte corrélation observée est due essentiellement aux points correspondants à la kanamycine et à l'amikacine pour Escherichia coli ATCC 25922 et au point correspondant au sulfaméthoxazole pour Escherichia coli ATCC 29194. Il n'en reste pas moins vrai que l'augmentation de l'énergie de maintenance et plus lente pour les antibiotiques dont la zone de concentration utile est plus élevée.

4.2.3.2 MODELE LOGISTIQUE

Quand un phénomène de saturation de l'augmentation de l'énergie de maintenance est observé, il est tentant d'utiliser un modèle logistique pour résumer les données. Le modèle logistique diffère du modèle exponentiel par l'introduction d'un paramètre supplémentaire, m_m, correspondant à la valeur maximale de l'énergie de maintenance pour les plus fortes concentrations. L'accroissement de l'énergie de maintenance est alors freiné au fur et à mesure que l'on s'approche de cette limite :

$$\frac{dm}{dc} = \lambda\, m\left(1 - \frac{m}{m_m}\right) \qquad \text{[IV.19]},$$

soit sous sa forme intégrée,

$$m(c) = \frac{m_m}{m_m - m_o + m_o e^{\lambda c}}\; m_o e^{\lambda c} \qquad \text{[IV.20]}.$$

Les paramètres ont été estimés comme précédemment en utilisant le critère des moindres carrés sur le logarithme des valeurs de l'énergie de maintenance. Les régions de confiances pour la valeur des paramètres ont été déterminées en utilisant le même principe que décrit au chapitre 3.

Paramètres du modèle logistique

	Log m_o	Log m_m	λ [$mg^{-1}.l$]
ATCC 25922			
NA	-0.857 [-1.3,-0.45]	1.173 [0.95,1.65]	3.80 [2.5,5.5]
ATCC 29194			
TMP	-1.735 [-∞,-1]	-0.351 [-0.6, 0.2]	46.7 [0,1000]
NA	-1.612 [2.6,-0.8]	1.458 [1.32,1.63]	6.54 [4.2,10.0]
C	-1.860 [-4.0,-1.0]	-0.17 [-0.3,0.3]	3.31 [1.0,9.0]

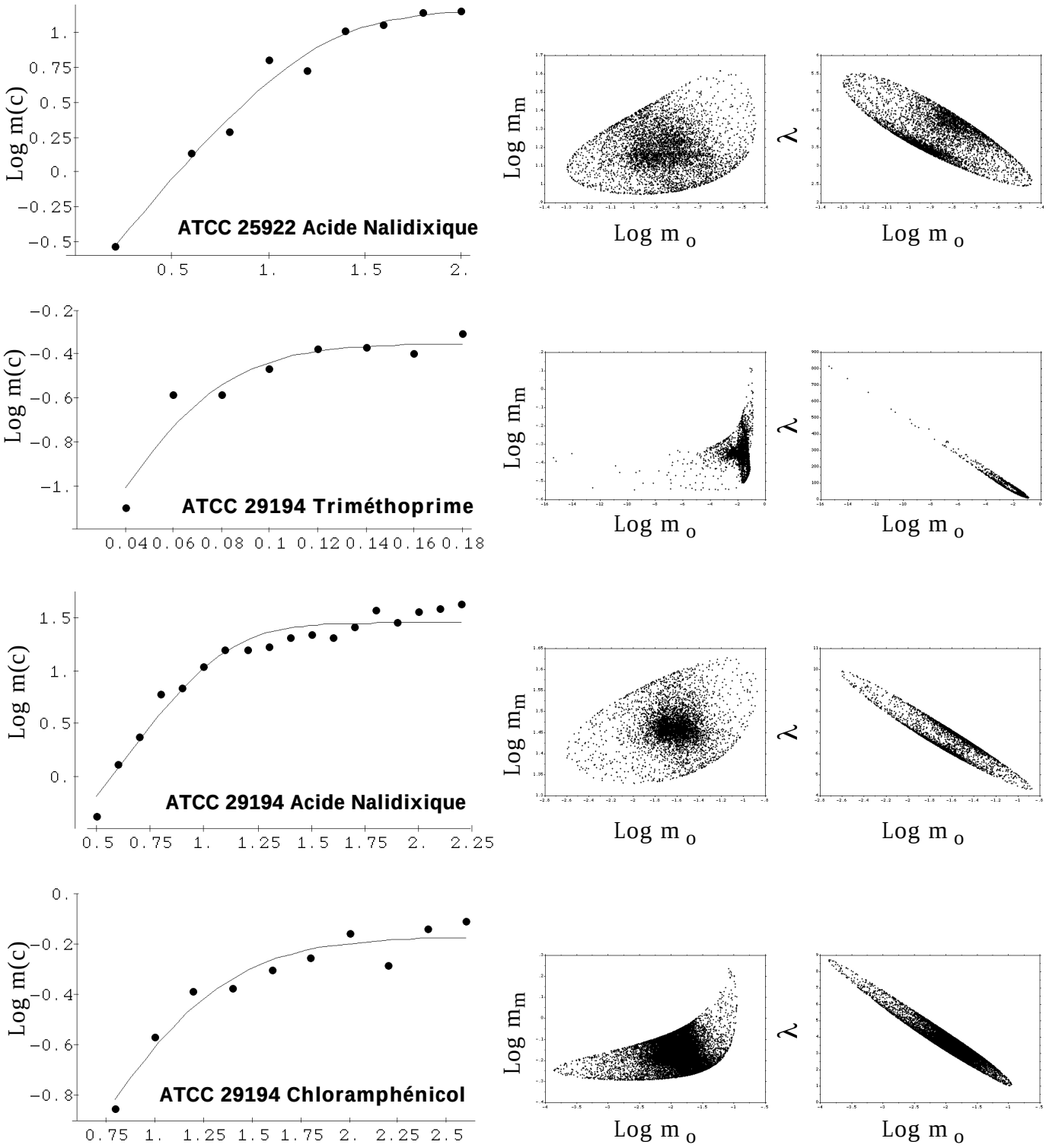
Les ajustements (cf. Fig. 4.9) sont satisfaisants et les régions de confiance bien définies dans le cas de l'acide nalidixique pour les deux souches. Pour le triméthoprime, la valeur du paramètre λ paraît anormalement haute par rapport aux valeurs obtenues pour les autres antibiotiques, ce qui donne un argument en faveur de l'existence d'un point initial aberrant, donnant à lui seul cet aspect infléchi à la courbe expérimentale. En conséquence, la région de confiance pour la valeur des paramètres s'échappe à l'infini. Ce comportement est retrouvé, dans une moindre mesure, dans le cas du chloramphénicol.

Par rapport aux valeurs obtenues avec le modèle exponentiel, les valeurs de m_o sont améliorées (dans le sens d'un plus grand réalisme) de par leur diminution. Les valeurs de m_o obtenues avec le modèle logistique sont du même ordre de grandeur que celles trouvées précédemment quand le modèle exponentiel avait été retenu. Elles sont donc a priori satisfaisantes.

Fig. 4.9

AJUSTEMENTS DU MODELE LOGISTIQUE

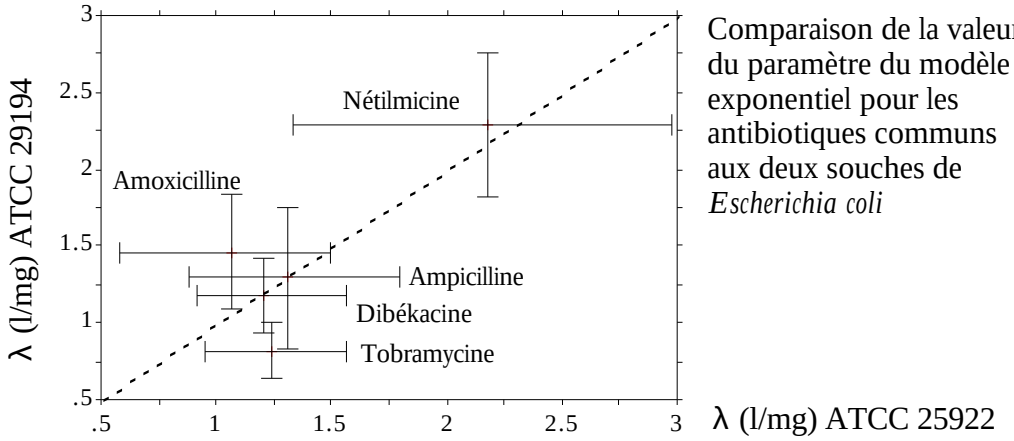
Représentation du logarithme de l'énergie de maintenance [mg glucose/(mg biomasse.h)] en fonction de la concentration en antibiotique [mg/l]. Les courbes représentent l'ajustement au modèle logistique obtenu par régression non linéaire. Les graphiques des droites sont des projections de la région de confiance pour la valeur des paramètres (α=0.05).



4.3 RESUME DU QUATRIEME CHAPITRE

L'énergie de maintenance peut être déterminée, avec certaines limitations, pour caractériser l'effet d'une concentration sub-inhibitrice d'antibiotiques sur la croissance d'une population de micro-organismes. Chez Escherichia coli, l'énergie de maintenance augmente très rapidement avec la concentration en antibiotiques (modèle exponentiel IV.15) sauf dans le cas de l'acide nalidixique où un tassement est visible aux plus fortes concentrations (modèle logistique IV.20).

La valeur du paramètre λ du modèle exponentiel (cf. IV.15) permet de comparer facilement l'efficacité relative des antibiotiques ainsi que la sensibilité des souches.



Comparaison de la valeur du paramètre du modèle exponentiel pour les antibiotiques communs aux deux souches de *Escherichia coli*

La sensibilité des deux souches étudiées est très voisine à l'exception de la Tobramycine pour laquelle la souche ATCC 25922 semble légèrement plus sensible. Les efficacités des antibiotiques étudiés sont très proches sauf dans le cas de la Nétilmicine qui est plus active.

5. CONCLUSION GENERALE

"Le contenu d'une expression mathématique est toujours beaucoup plus riche que ne le croit, en général, son auteur"
MONOD (1941)

5.1 RE-EVALUATION DU MODELE DE MONOD

Nous avons montré que le modèle de Monod pouvait être compris comme une approximation du modèle de croissance logistique présentant un phénomène de retard. Il est donc légitime de s'interroger sur les conséquences que pourraient avoir en pratique la levée de cette approximation. Elles sont bien évidemment différentes selon l'utilisation que l'on fait du modèle de Monod.

5.1.1 LE MODELE DE MONOD EN TANT QUE MODELE PHENOMENOLOGIQUE

Par définition, les conséquences devraient être nulles. Le modèle de Monod était à l'origine un modèle phénoménologique, et il peut très bien le rester dans des applications purement descriptives du type "courbe de réponse". La consultation de la littérature nous a cependant montré qu'une telle utilisation du modèle était actuellement plutôt rare. La conséquence de notre travail ne pourrait être ici qu'indirecte en favorisant le retour à utilisation plus neutre du modèle de Monod, celle qui était originellement la sienne.

5.1.2 LE MODELE DE MONOD EN TANT QU'ATOME CONSTITUTIF DE MODELES PLUS COMPLEXES

Remplacer le modèle de Monod par un modèle logistique avec retard n'est pas sans conséquences sur la dynamique globale du système où il est utilisé (l'effet le plus pernicieux de l'introduction d'un délai pouvant être celui d'une déstabilisation des solutions stables). En effet, le passage entre les deux modèles ne consiste pas en une simple reparamétrisation car il revient quasiment à introduire une nouvelle variable

d'état, donc à augmenter la dimension du système étudié, et par la même la complexité des solutions. Nous ne pouvons pas écarter la possibilité que l'utilisation du modèle de Monod en tant qu'approximation du modèle logistique avec délai ait masqué des phénomènes importants pour la dynamique globale des systèmes complexes, en particulier pour les systèmes écologiques où le modèle de Monod est très utilisé. Cependant, il ne faut pas oublier que deux phénomènes biologiques importants peuvent contribuer à la stabilisation de la dynamique d'un système écologique complexe : i) la mobilité des prédateurs leur permet de s'affranchir, dans une certaine mesure, des fluctuations locales de la concentration en proies, ii) les constantes de temps supérieures des prédateurs leur permet de lisser les fluctuations temporelles rapides des proies. Les discussions constructives dans ce domaine ne peuvent donc se concevoir que dans une symbiose étroite entre les composantes théoriques et expérimentales. Vraisemblablement, il doit exister une pression de sélection à l'encontre de l'instabilité des systèmes, mais l'histoire nous a appris à considérer ces principes généraux avec méfiance : il suffit de mentionner les contre-exemples théoriques (KOCH 1974, KEENER 1985, BUTLER et WOLKOWICZ 1987) et expérimentaux (JOST et al. 1973) au principe d'exclusion compétitive.

5.1.3 LE MODELE DE MONOD EN TANT QUE DESCRIPTEUR DE STRATEGIES EVOLUTIVES

Les conséquences ne peuvent pas être neutres car lorsque l'on discute des paramètre d'un modèle de croissance d'un point de vue évolutif, il faut envisager comment leur valeur se répercute au niveau de l'adéquation d'une population à son milieu. De façon implicite, il faut donc faire varier la valeur des paramètres. Dans ce contexte, le couplage entre K_S et μ_{max} ne peut être passé sous silence : nous ne pouvons plus envisager des stratégies évolutives orthogonales qui porteraient sur tel ou tel paramètre. Ici, l'utilisation du modèle logistique avec délai permet une "ségrégation indépendante" des caractères que sont l'affinité pour le substrat d'une part et le délai minimum pour la production de la biomasse d'autre part. Nous clarifions ainsi les discussions sur les stratégies évolutives envisageables.

5.1.4 LE MODELE DE MONOD EN TANT QUE POINT DE DEPART D'AUTRES MODELES

Les effets de nombreux paramètres expérimentaux tels que la température, le pH, l'activité de l'eau, la concentration en inhibiteurs, peuvent être décrits en faisant varier un ou plusieurs paramètres du modèle de Monod en fonction de la variable de contrôle d'intérêt. Il n'est jamais bien évident de savoir a priori quels sont les paramètres du modèle de Monod qu'il faudrait faire varier, ni comment. L'utilisation du modèle de croissance logistique avec délai pourrait être utile ici pour faciliter l'élaboration de modèles de croissance multifactoriels, quitte à revenir ensuite à un modèle de Monod modifié (i.e. une équation différentielle ordinaire) pour faciliter leur mise en œuvre.

5.2 EFFET DES ANTIBIOTIQUES SUR L'ENERGIE DE MAINTENANCE

Nous avons montré que le calcul de l'énergie de maintenance pouvait être un indice intéressant pour caractériser l'effet de concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques sur les micro-organismes. Les avantages et inconvénients de son utilisation peuvent être mis en regard dans le tableau suivant.

Utilisation de l'énergie de maintenance en tant qu'indice pour caractériser l'effet des antibiotiques sur la croissance

AVANTAGES	INCONVENIENTS
• Elle possède une signification parlante pour le biologiste parce que voisine de celle du métabolisme basal	• Elle est plus précise que la notion de concentration minimale inhibitrice, donc plus difficile à accepter.
• Elle intègre l'ensemble de la courbe de croissance ce qui minimise les risques de fausse interprétation par rapport à un indice basé sur une seule mesure	• Il faut mesurer la biomasse dans l'absolu avec une fréquence d'échantillonnage temporel élevée.
• Elle est relativement facile à mettre en œuvre (calcul facile, mesure de la biomasse seule)	• Elle suppose d'utiliser un milieu de culture dont on connait la concentration initiale en substrat limitant
• Elle est indépendante du modèle de croissance et du modèle d'action de l'antibiotique	• Elle suppose une automatisation du découpage des courbes de croissance pour une utilisation intensive
• Elle permet une analyse fine dans le cas des concentrations sub-inhibitrices	• Le cas des concentrations sub-inhibitrices est statistiquement peu probable quand l'énergie de maintenance croit de façon exponentielle avec la concentration
• Elle permet de rechercher les antibiotiques susceptibles de poser des problèmes (saturation de l'effet avec la dose)	• Elle suppose que l'énergie de maintenance du témoin est négligeable et que tout le substrat est consommé en fin de croissance

Pour résumer succinctement la situation, le calcul de l'énergie de maintenance est possible au niveau du laboratoire de recherche mais son application en routine est illusoire parce que l'utilisation de milieux de culture traditionnels non définis y est la règle. La conclusion que nous pouvons tirer de notre étude n'est que descriptive et très simple : l'énergie de maintenance augmente le plus souvent de façon exponentielle avec la concentration en antibiotique. Ceci ne devrait pas étonner outre mesure les microbiologistes puisqu'ils utilisent déjà depuis longtemps des dilutions en série pour cerner l'efficacité d'un antibiotique.

6. ANNEXES

6.1 DIATOM/P

Les données sont extraites de l'article de FINENKO et KRUPATKINA-AKININA (1974). Ces auteurs ont étudié l'effet de concentrations croissantes de phosphore inorganique sur le taux de croissance de sept espèces de diatomées isolées du phytoplancton de la Mer noire. Cinq espèces forment des colonies (Chaetoceros curvisetus, Chaetoceros socialis, Ditylum brightwellii, Skeletonema costatum et Cerataulina bergonii) et deux restent à l'état unicellulaire (Coscinodiscus gigas et Coscinodiscus granii). Les espèces formant des colonies ont été isolées dans la baie de Sébastopol, et les espèces unicellulaires à 10 miles au large. Pour donner un point de repère, au moment où les expériences ont été conduites, la concentration en phosphore était de 5 à 8 $\mu g.l^{-1}$ dans la baie de Sébastopol, et en dessous du seuil de détection au large.

Les auteurs utilisent un modèle de Monod modifié pour tenir compte d'un taux de croissance résiduel μ_r en l'absence de phosphore inorganique (en raison de la présence de reliquats de réserves intracellulaires). Les taux de croissance du tableau ci-dessous sont extraits de la Table 1 de l'article mentionné. Pour pouvoir utiliser directement le modèle de Monod, les valeurs de ces taux de croissances ont été corrigées en retranchant μ_r partout à l'exception de Cerataulina bergonii #1 où μ_r n'a pas été mesuré.

Taux de croissance (j^{-1}) en fonction de la concentration en phosphate

		Concentration en phosphate ($\mu g.l^{-1}$)															
	#	0.0	0.3	0.6	1.2	2.5	5.0	10	20	30	40	50	60	75	100	150	200
Chaetoceros socialis	1	0.00	0.67	0.96	1.24	-	1.34	-	1.54	1.54	-	-	-	-	-	-	-
	2	0.00	1.04	1.18	1.18	-	1.30	-	1.33	1.33	-	-	-	-	-	-	-
	3	0.00	-	0.40	0.60	-	0.66	1.41	1.51	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	0.00	-	0.35	0.84	-	1.32	1.42	1.53	-	-	-	-	-	-	-	-
Chaetoceros curvisetus	1	0.00	-	-	-	-	0.48	0.73	0.78	0.80		0.80	0.80				
	2	0.00	-	-	0.25	0.44	0.76	0.86	0.93	0.99	-	-	-	-	-	-	-
	3	0.00	-	-	-	-	0.69	0.76	0.96	0.99	1.01	-	-	-	-	-	-
Skeletonema costatum	1	0.00	0.07	0.09	0.17	-	0.26	-	0.31	0.37	-	-	-	-	-	-	-
	2	0.00	-	0.05	0.32	-	0.82	-	1.34	1.55	-	-	-	-	-	-	-
	3	0.00	1.10	-	1.70	-	1.90	2.10	2.00	2.20	-	-	-	-	-	-	-
	4	0.00	0.38	-	0.43	-	0.67	1.00	-	0.92	-	-	-	-	-	-	-
Cerataulina bergonii	1	-	-	-	-	0.87	0.92	0.92	0.96	-	1.05	1.14	-	1.15	1.15	1.13	-
	2	0.00	0.05	-	0.23	0.19	0.33	0.29	-	-	0.33	0.42	-	0.42	0.45	0.51	0.52
Coscinodiscus granii	1	0.00	0.10	0.16	0.28	0.30	0.31	0.35	0.37	-	0.42	-	-	0.37	-	-	-
	2	0.00	0.21	0.27	0.36	0.01	0.36	0.43	0.39	-	0.43	-	-	-	-	-	-
	3	0.00	0.24	-	-	0.32	0.27	0.41	0.49	-	-	0.49	-	-	-	-	-
Coscinodiscus gigas	1	0.00	0.44	0.62	0.61	-	0.69	0.73	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	0.00	0.08	0.11	0.15	-	0.14	0.43	0.38	-	0.49	-	-	-	-	-	-
Ditylum brightwellii	1	0.00	0.28	-	0.32	0.20	-	0.44	0.46	-	0.58	0.60	-	0.60	0.70	0.68	0.68

Numéro de l'expérience

6.2 LISTE DES FIGURES

1.1 Exemples de courbes de croissance
1.2 Exemple de variabilité intra-spécifique de la croissance
1.3 L'hypothèse du rendement constant
1.4 Simulation du modèle de Monod
1.5 Collecte et manipulation des références bibliographiques
1.6 Variations autour d'un titre
1.7 Croissance du modèle de Monod
1.8 Valeurs publiées des paramètres du modèle de Monod
1.9 Validité de l'hypothèse de l'état pseudo-stationnaire
2.1 Simulation avec l'automate cellulaire
2.2 Estimation des paramètres du modèle de Monod
2.3 Résultats extraits de la littérature
3.1 L'estimation des paramètres
3.2 Un exemple de mesa
3.3 Effet d'une reparamétrisation sur les régions de confiance
3.4 Reparamétrisation utilitaire
3.5 Simulation du modèle des températures cardinales
3.6 Schéma de la détermination des régions de confiance
3.7 Régions de confiance pour le modèle des températures cardinales
3.8 Régions de confiance pour le modèle de Monod
3.9 Analyse des résidus
3.10 Régions de confiance pour le modèle de Monod après élimination des points extrêmes
4.1 Le rendement de la croissance
4.2 Rendement de la croissance pour deux températures
4.3 Escherichia coli ATCC 25922
4.4 Escherichia coli ATCC 25922 (suite)
4.5 Escherichia coli ATCC 29194
4.6 Escherichia coli ATCC 29194 (suite)
4.7 Augmentation de l'énergie de maintenance avec la concentration en antibiotique
4.8 Ajustements du modèle exponentiel
4.9 Ajustements du modèle logistique

6.3 E.COLI/TEMP

Taux de croissance de Escherichia coli en fonction de la température. Ces données ont été déduites de la figure 2 de l'article RATKOWSKY et al. (1983).

Température K	Taux de croissance 1/h
294	0.25
296	0.56
298	0.61
300	0.79
302	0.94
304	1.04
306	1.16
308	1.23
310	1.36
312	1.32
314	1.36
316	1.34
318	0.96
319	0.83
320	0.16

6.4 MESA

Les données ont été obtenues en simulant un modèle logistique avec un modèle d'erreur additif consistant en une distribution uniforme de l'erreur dans l'intervalle [-1,1].

$$x(t) = x_o e^{\mu_o t} \frac{x_m}{x_m - x_o + x_o e^{\mu_o t}} + \varepsilon$$

$$L(\varepsilon) = U(-1,1)$$

x : biomasse
t : temps (0,1,...,10 pour la simulation)
μ_o : taux de croissance (1.0 pour la simulation)
x_o : biomasse initiale (1.0 pour la simulation)
x_m : biomasse finale (100.0 pour la simulation)

Les valeurs obtenues sont les suivantes :

t	x
0	1.43981
1	3.62943
2	6.96147
3	16.7893
4	35.2575
5	60.8174
6	81.1304
7	92.1312
8	95.8904
9	98.3770
10	99.5715

6.5 MONOD/CHRONIQUE

Evolution de l'impact du modèle de Monod au cours du temps. La source principale des données est le Science Citation Index. (cf. chapitre 1)

Année	Nombre de citations	Année	Nombre de citations
1946	6	1968	46
1947	6	1969	54
1948	6	1970	44
1949	9	1971	47
1950	10	1972	58
1951	17	1973	71
1952	27	1974	61
1953	20	1975	67
1954	17	1976	59
1955	22	1977	69
1956	26	1978	56
1957	28	1979	51
1958	28	1980	65
1959	30	1981	68
1960	22	1982	71
1961	35	1983	65
1962	24	1984	67
1963	38	1985	75
1964	30	1986	62
1965	37	1987	56
1966	39	1988	57
1967	52		

6.6 MUMAX/KS

Les valeurs suivantes des paramètres K_s et μ_{max} du modèle de MONOD (1941) ont été sélectionnées parce que le paramètre K_s a été estimé pour différentes valeurs du paramètre μ_{max}. Dans tous les cas (excepté JANNASCH 1968, KOCH et WANG 1982) il s'agit toujours de la même espèce et du même substrat limitant. L'ordre de présentation est chronologique.

SCHULZE et LIPE (1964)

Croissance de Escherichia coli (une souche non référencée du laboratoire de microbiologie de l'université de l'état du Michigan, USA) avec le glucose comme facteur limitant. Ces auteurs ont répété deux fois la même expérience pour analyser la reproductibilité des résultats. Les paramètres sont estimés par régression linéaire sur une représentation en double inverse.

Expérience	μ_{max} (h^{-1})	K_s (mg glucose.l^{-1})
N° 1	0.92	73
N° 2	1.05	99

Les données expérimentales ont été reprises par BOYLE et BERTHOUEX (1974) qui obtiennent les estimations suivantes par régression non linéaire:

Expérience	μ_{max} (h^{-1})	K_s (mg glucose.l^{-1})
N° 1	1.07	92.5
N° 2	1.142	112.3

KNOWLES *et al.* (1965)

Croissance de Nitrosomonas sp. et de Nitrobacter sp. en fonction de la concentration en azote (NH_3-N) pour différentes températures. Les paramètres sont estimés par la confrontation directe des courbes de consommation du substrat obtenues expérimentalement et les courbes théoriques obtenues par intégration numérique du modèle. Le critère d'ajustement est subjectif.

	Nitrosomonas sp.		Nitrobacter sp.	
Température (°C)	μmax (j^{-1})	K_S (mg NH_3 l^{-1})	μmax (j^{-1})	K_S (mg NH_3 l^{-1})
8.3	0.2	0.2	0.5	0.2
8.6	0.27	0.2	0.6	0.18
13.9	0.45	0.4	0.7	0.18
14.5	0.58	0.4	0.7	0.25
22.2	1.02	1.0	1.2	1.0
23.2	0.85*	1.2*	1.3*	1.3*
28.5	2.0	1.1	2.0	2.0
29.2	1.8	1.8	1.5	3.0
29.3	1.95	2.0	2.0	3.0
30.8	1.9	2.0	2.0	7.0
28.8	2.0	1.6	1.9	5.0
29.8	2.1?	8.0?	2.5	8.0
19.0	0.7	0.6	1.2	2.0
19.0	0.68	0.6	1.2	1.5
19.0	0.65	0.6	1.1	1.5
19.0	0.75	0.6	1.0	1.7
19.0	0.57	0.6	0.7	1.6
18.8	0.7	0.6	0.9	1.5
18.8	0.7	0.6	1.1	1.7
18.8	0.7	0.6	0.8	1.7
18.8	0.7	0.6	0.9	2.0
18.8	0.6	0.6	0.67	1.9
18.8	0.5*	3.0*		
27.0	1.5	1.7		
27.0	1.5	1.7		
27.0	1.5	1.7		
27.0	1.5	1.7		
27.0	1.5	1.7		

* Concentration en oxygène insuffisante dans le milieu.

? Point aberrant

CAPERON (1967)

Croissance de Chlorella vulgaris en fonction de l'intensité lumineuse pour deux préconditionnements différents (30 Klux et 3 Klux).

Préconditionnement	μ_{max} *	K_s (Klux)
30 Klux	5.14	11.9
3 Klux	1.30	2.08

* D'après l'activité photosynthétique : mg $C.h^{-1}.(mg\ chlorophylle)^{-1}$

JANNASCH (1968)

Paramètres de la croissance à 20 °C de 5 espèces marines pour deux substrats limitants (acide lactique et glucose) mesurés avant (A) et après (B) enrichissement dans un chémostat en utilisant une solution du substrat correspondant.

Acide lactique		
Espèce	μ_{max} (h^{-1})	K_s (10^{-5} M)
Achromobacter sp.	A : 0.15	A : 1.0
(souche 208)	B : 0.40	B : 5.0
Vibrio sp.	A : 0.15	A : 0.8
(souche 204)	B : 0.80	B : 9.5
Spirillum sp.	A : 0.45	A : 3.0
(souche 101)	B : 1.10	B : 12.0
Pseudomonas sp.	A : 0.80	A : 9.0
(souche 201)	B : 1.4	B : 15.0

Glucose		
Espèce	μ_{max} (h^{-1})	K_s (10^{-5} M)
Achromobacter sp.	A : 0.35	A : 3.0
(souche 208)	B : 0.90	B : 12.0
Pseudomonas sp.	A : 0.95	A : 10.5
(souche 201)	B : 1.60	B : 18.0

JONES et HOUGH (1970)

Paramètres de la croissance de Saccharomyces cerevisiae (isolée d'un échantillon commercial de levure de boulanger) avec le glucose comme facteur limitant déterminés pour deux températures. Les paramètres sont estimés par régression linéaire après transformation en double inverse (fig. I de l'article).

Température (°C)	μ_{max} (h^{-1})	K_s (mg glucose.l^{-1})
25	0.22	129
38	0.25	300

SHELEF *et al.* (1970)

Paramètres de la croissance de deux souches de Chlorella pyrenoidosa (TX 71105 et Emerson) avec le nitrate comme facteur limitant, pour deux températures.

Chlorella pyrenoidosa TX 71105		
Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (mg eq. N.l^{-1})
35.0	4.32	1.38
39.2	5.63	2.96

Chlorella pyrenoidosa Emerson		
Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (mg eq. N.l^{-1})
19.0	1.45	0.70
28.5	2.22	0.85

TOPIWALA et SINCLAIR (1971)

Paramètres de la croissance de Aerobacter aerogenes (Type 169 du laboratoire de bactériologie de Manchester, Angleterre) en fonction de la concentration en glucose pour différentes températures. Résultats extraits du tableau II de l'article.

Température (°C)	μ_{max} (h^{-1})	K_s (?)
25	0.783	0.015
30	1.09	0.012
35	1.22	0.008
40	1.30	0.007

? Donné comme ayant les dimensions de l'inverse d'un temps dans la nomenclature de l'article, plus vraisemblablement il s'agit de $g.l^{-1}$.

BOYLE et BERTHOUEX (1974)

Voir SCHULZE et LIPE (1964)

MUCK et GRADY (1974)

Paramètres de la croissance d'une population de micro-organismes isolés d'une station d'épuration avec le glucose comme substrat limitant pour trois températures différentes. Extrait du tableau 3 de l'article.

Température (°C)	μ_{max} (h^{-1})	K_s (mg glucose l^{-1})
10	0.204	130
20	0.492	112
30	0.865	172

HOLMBERG et al. (1980)

Paramètres de la croissance de Bacillus thuringiensis en fonction de la concentration en sucres totaux. L'expérience a été répétée 4 fois. Extrait de la table II de l'article.

Essai (°C)	μ_{max} (h^{-1})	K_s ($g\ l^{-1}$)
N° 1	1.00 ± 1.95	6.82 ± 22.3
N° 2	1.07 ± 0.78	1.79 ± 2.24
N° 3	0.71 ± 0.17	12.86 ± 0.15

N° 4	0.31 ± 0.23	7.00 ± 11.9

BORIGHEM et VEREECKEN (1981)

Croissance de Acinetobacter lwoffii (isolé après sélection des micro-organismes d'une station d'épuration pour leur résistance au phénol) en fonction de la concentration en phénol. Les auteurs sont intéressés par la croissance aux fortes concentrations en phénol (détoxification). Ils utilisent le modèle de ANDREWS (1968) pour rendre compte de l'inhibition observée aux fortes concentrations. Ils ont estimé les paramètres à partir de cultures en cuvée et en continu. Extrait de la table IV.

Culture	μ_{max} (h^{-1})	K_s (mg l^{-1})
en cuvée	0.703 ± 0.026	23.9 ± 3.2
en continu	0.699 ± 0.033	22.6 ± 3.44

SENFT *et al.* (1981)

Paramètres de la croissance de Volvox aureus et Volvox globator (UTEX LB955) en fonction de la concentration en phosphore à différentes température. Extrait du tableau I de l'article.

Volvox aureus		
Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (P 10^{-6} M)
10	0.45	0.23
15	0.55	0.26
20	1.00	1.22
25	0.73	0.62
30	0.64	0.20

Volvox globator		
Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (P 10^{-6} M)
10	0.20	0.46
15	0.62	1.24
20	1.17	1.89
25	0.74	0.48

KOCH et WANG (1982)

Croissance de Escherichia coli ML30 et d'un variant qui en dérive avec le glucose comme facteur limitant. La souche dérivée a été sélectionné par culture dans un chémostat à l'équilibre (D=0.06 h^{-1}) pendant plus d'un mois. Les paramètres sont estimés par régression non-linéaire.

Souche	μ_{max} (h^{-1})	K_s (glucose 10^{-6} M)
Escherichia coli ML30	1.23	13.0
variant	0.536	0.597

MAYER et al. (1982)

Croissance d'une population non définie (isolée de la station d'épuration de Mirabel à Saint-Canut, qui traite les eaux usées de l'aéroport de international de Montréal) en fonction de la concentration en lait en poudre pour trois températures. D'après la table 6 et l'équation (9).

Température (°C)	μ_{max} (h^{-1})	K_s (lait en poudre $mg.l^{-1}$)
5	0.06	180.29
15	0.138	309.29
25	0.245	286.50

MECHLING et KILHAM (1982)

Paramètres de la croissance de Stephanodiscus minutus (LM STEPH S-1 JM) avec le silicium comme substrat limitant pour différentes températures et deux modes opératoires. D'après la table 2 de l'article.

Culture en cuvée :

Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (Si 10^{-6} M)
10	1.02 [0.98-1.07]	0.31 [0.22-0.41]
15	1.15 [0.99-1.31]	1.03 [0.68-1.47]
20	1.08 [0.97-1.19]	0.88 [0.60-1.22]

Culture semi-continue :

Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (Si 10^{-6} M)
10	0.86 [0.67-1.04]	0.68 [0.12-1.39]
15	0.85 [0.69-1.02]	0.12 [0.05-0.21]
20	1.29 [0.42-2.16]	1.24 [0.20-5.94]

TILMAN *et al.* (1982)

Paramètres de la croissance de Asterionella formosa et Synedra ulna avec le silicium comme facteur limitant, de Oscillatoria agardhii avec la phosphore comme facteur limitant, pour différentes températures. Extrait de la tableau 1 de l'article.

Asterionella formosa		
Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (Si 10^{-6} M)
4	0.35	1.3 ± 0.6
8	0.52	1.6 ± 0.2
13	0.79	2.5 ± 0.2
20	0.73	3.7 ± 0.1
24	0.66	9.3 ± 0.9

Synedra ulna		
Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (Si 10^{-6} M)
8	0.16	4.9 ± 0.2
13	0.71	3.8 ± 0.3
20	0.65	4.0 ± 0.6
24	0.78	4.4 ± 0.3

Oscillatoria agardhii		
Température (°C)	μ_{max} (j^{-1})	K_s (P 10^{-6} M)
15	.65	.032
20	.56	.006
25	.54	.035

ITOH et TAKAHASHI (1984)

Paramètres de la croissance de Saccharomyces cerevisiae (levure commerciale : Oriental Yeast Co., Ltd., Tokyo) avec le glucose comme substrat limitant pour différentes températures. Extrait de la table I.

Température (°C)	μ_{max} (h^{-1})	K_s (glucose 10^{-3} M)
16.0	0.148	1.14
20.0	0.212	1.34
23.6	0.304	1.32
30.0	0.433	1.38
35.5	0.483	1.6
37.7	0.416	1.35
39.0	0.393	1.42

MECHSNER (1984)

Paramètres de la croissance de Achromobacter sp. (isolé des eaux usées d'une station d'épuration) avec le glucose comme facteur limitant pour deux températures. D'après la figure 2(a) les valeurs suivantes ont été obtenues :

T=25°C		T=15°C	
Glucose $mg.l^{-1}$	μ h^{-1}	Glucose $mg.l^{-1}$	μ h^{-1}
1.0	0.088	1.0	0.040
0.5	0.087	0.5	0.038
0.1	0.050	0.25	0.032
0.05	0.035	0.1	0.024
		0.05	0.016

Par régression non linéaire on obtient les valeurs suivantes pour les paramètres :

Température (°C)	μ_{max} (h^{-1})	K_s (glucose $mg.l^{-1}$)
25	0.099 [0.079-0.124]	0.0928 [0.0376-0.214]
15	0.0437 [0.0411-0.0465]	0.0850 [0.0665-0.107]

NB : les valeurs trouvées par les auteurs par régression linéaire après transformation en double inverse sont à 25°C de 0.095 h^{-1} pour μ_{max} et de 0.0864 $mg.l^{-1}$ pour K_s, à 15°C de 0.046 h^{-1} pour μ_{max} et de 0.0882 $mg.l^{-1}$ pour K_s.

SIMKINS et ALEXANDER (1985)

Paramètres de la croissance de Salmonella typhimurium LT2 avec le glucose comme facteur limitant. Extrait de la table 3.

S_o (mg.l^{-1})	μ_{max} (h^{-1})	K_s (glucose mg.l^{-1})
32	0.55 ± 0.05	0.7 ± 0.8
10	0.74 ± 0.12	1.5 ± 0.8
3.2	1.05 ± 0.28	1.8 ± 0.8
1.0	0.79 ± 0.13	0.36 ± 0.13
0.32	0.61 ± 0.13	0.19 ± 0.07

ROCHET (1986)

Paramètres de la croissance de Staphylococcus aureus Cowan1 avec le glucose comme facteur limitant. 10 répétitions de la même manipulation. D'après la tableau page a29.

Expérience	μ_{max} (h^{-1})	K_s (glucose mg.l^{-1})
B1	0.461	40.2
B2	0.484	55.7
B3	0.454	35.0
B4	0.448	28.5
B5	0.520	116.0
D1	0.566	109.0
D2	0.505	89.5
D3	0.501	57.7
D4	0.636	134.0
D5	0.539	93.2

SENN (1989)

Paramètres de la croissance de Escherichia coli ML30 (DSM 1329) avec le glucose comme facteur limitant. Estimation des paramètres à partir de cultures en cuvée (p 62) et en continu (p. 58).

Culture	μ_{max} (h^{-1})	K_s (glucose mg l^{-1})
en cuvée	1.71	1500

en continu	0.77	0.0465

6.7 S.AUREUS/PYRUVATE

Croissance de *Staphylococcus aureus* sur le Pyruvate en milieu M63. Le temps est indiqué en minutes et la biomasse par sa contribution à la densité optique du milieu de croissance (cm^{-1}). Les premiers points ont été enlevés des données originelles à cause de la haute imprécision relative pour les faibles densités optiques. Le temps t=0 n'est donc pas le véritable commencement de l'expérience. La concentration initiale en pyruvate était de 0.05 $g.l^{-1}$ et l'inoculum en dessous du niveau de détection de sorte que le rendement vaut 0.1984/0.05 = 3.968 $cm^{-1}.g^{-1}.l$.

t	Biomasse	t	Biomasse	t	Biomasse	t	Biomasse
0	.0084	150	.0325	300	.1118	450	.1818
5	.0087	155	.0342	305	.1147	455	.1829
10	.0094	160	.0354	310	.1189	460	.1840
15	.0098	165	.0370	315	.1241	465	.1851
20	.0103	170	.0386	320	.1286	470	.1859
25	.0110	175	.0402	325	.1326	475	.1867
30	.0114	180	.0419	330	.1354	480	.1878
35	.0121	185	.0439	335	.1399	485	.1886
40	.0126	190	.0453	340	.1432	490	.1895
45	.0131	195	.0473	345	.1466	495	.1906
50	.0137	200	.0496	350	.1500	500	.1908
55	.0145	205	.0514	355	.1525	505	.1922
60	.0150	210	.0538	360	.1554	510	.1925
65	.0157	215	.0562	365	.1574	515	.1931
70	.0163	220	.0586	370	.1597	520	.1936
75	.0172	225	.0611	375	.1615	525	.1942
80	.0180	230	.0633	380	.1637	530	.1945
85	.0186	235	.0658	385	.1658	535	.1953
90	.0196	240	.0685	390	.1671	540	.1959
95	.0206	245	.0712	395	.1691	545	.1961
100	.0215	250	.0745	400	.1704	550	.1967
105	.0225	255	.0776	405	.1723	555	.1970
110	.0233	260	.0814	410	.1733	560	.1973
115	.0241	265	.0848	415	.1744	565	.1976
120	.0253	270	.0884	420	.1757	570	.1976
125	.0265	275	.0921	425	.1768	575	.1976
130	.0277	280	.0958	430	.1778	580	.1978
135	.0291	285	.1000	435	.1789	585	.1978
140	.0299	290	.1041	440	.1800	590	.1981
145	.0314	295	.1086	445	.1808	595	.1984

6.8 S.TYPHIMURIUM/GLUCOSE

Croissance de *Salmonella typhimurium* sur le glucose en milieu M63. Le temps est indiqué en minutes et la biomasse par sa contribution à la densité optique du milieu de croissance (cm^{-1}). Les premiers points ont été enlevés des données originelles à cause de la haute imprécision relative pour les faibles densités optiques. Le temps t=0 n'est donc pas le véritable commencement de l'expérience. La concentration initiale en glucose était de 0.25 $g.l^{-1}$ et l'inoculum en dessous du niveau de détection de sorte que le rendement vaut 0.923/0.25 = 0.369 $cm^{-1}.g^{-1}.l$.

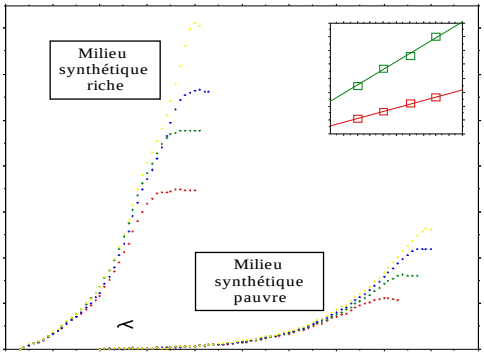
t	Biomasse	t	Biomasse	t	Biomasse	t	Biomasse
0	.0053	60	.0119	120	.0263	180	.0600
5	.0056	65	.0125	125	.0281	185	.0645
10	.0060	70	.0136	130	.0297	190	.0702
15	.0063	75	.0147	135	.0323	195	.0754
20	.0066	80	.0155	140	.0345	200	.0818
25	.0076	85	.0167	145	.0370	205	.0890
30	.0080	90	.0177	150	.0393	210	.0913
35	.0083	95	.0188	155	.0424	215	.0923
40	.0091	100	.0199	160	.0453	220	.0923
45	.0096	105	.0213	165	.0485	225	.0923
50	.0105	110	.0229	170	.0520		
55	.0111	115	.0244	175	.0562		

6.9 E.COLI/TEST

Taux de croissance de Escherichia coli K12 CIP 54117 en fonction de la concentration en glucose dans deux milieux de culture synthétiques : un milieu pauvre (M63 supplémenté en thiamine) et un milieu riche.

Composition du milieu synthétique pauvre sans glucose. KH_2PO_4 : 13.6 g/l; $(NH_4)_2SO_4$: 2 g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_20$: 0.2 g/l; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.5 mg/l; thiamine : 40 µg/l. pH=7.2.

Composition du milieu synthétique riche sans glucose. NH_4Cl : 0.5 g/l; Acide 3-morpholinopropane sulfonique : 2.09 g/l; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.11 g/l; K_2HPO_4 : 0.23 g/l; K_2SO_4 48.1 g/l; NaCl : 2.9 g.l; Biotine 10 µg/l; Pantothénate de calcium : 10 µg/l; Cyanocobalamine : 0.25 µg/l; Ménadione 10 µg/l; Mesoinositol : 50 µg/l; Nicotinamide : 25 µg/l; Acide nicotinique : 25 µg/l; Chlorhydrate de pyridoxal : 25 µg/l; Chlorhydrate de piridoxine : 25 µg/l; Riboflavine : 10 µg/l; Chlorhydrate de thiamine : 10 µg/l; Tocophérol : 10 µg/l; $(NH_4)_6Mo_70_{24} \cdot 4H_2O$: 3.7 µg/l; H_3BO_3 : 24.7 µg/l; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$: 3.9 µg/l; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$: 2.5 µg/l; $Fe_4(P_2O_7)_3$: 1.86 mg/l; $MnCl_2 \cdot 4H_20$: 15.8 µg/l; $ZnSO_4 \cdot 7H_20$: 2.9 µg/l; Hypoxanthine : 9.4 mg/l; Uracile : 5.8 mg/l; L-Alanine : 7.24 mg/l; L-Arginine : 9.82 mg/l; L-Asparagine : 4.83 mg/l; Acide L-aspartique : 5.86 mg/l; L-Cystéine : 2.53 mg/l; L-Glutamine : 4.09 mg/l; Acide L-glutamique : 8.10 mg/l; Glycine : 7.31 mg/l; L-Histidine : 3.19 mg/l; L-Isoleucine : 6.00 mg/l; L-Leucine : 9.34 mg/l; L-Lysine : 8.90 mg/l; L-Méthionine : 3.67 mg/l; L-Phénylalanine : 4.90 mg/l; L-Proline : 4.00 mg/l; L-Sérine : 3.56 mg/l; L-Thréonine : 4.74 mg/l; L-Tryptophane : 1.90 mg/l; L-Tyrosine : 3.99 mg/l; L-Valine : 7.84 mg/l; Choline•HCl : 0.5 mg/l; Ethanol : 5 µg/l; Glycérol : 2.45 mg/l; Tween 80 : 0.01 ml/l. pH=7.3.



Les concentrations initiales de glucose 20.0, 30.0, 40.0 et 50.0 mg/l ont été utilisées pour les deux milieux pour vérifier qu'il y a bien proportionnalité entre la concentration initiale en glucose et l'accroissement total de la biomasse. On obtient une bonne linéarité dans les deux cas : le glucose est bien le substrat limitant, et l'hypothèse du rendement constant au cours de la croissance est utilisable

Le tableau ci dessous donne les taux de croissance instantanés calculés avec l'équation [III.25] pour cette expérience

Milieu pauvre				Milieu riche			
S g.l-1	μ mn-1	S g.l-1	μ mn-1	S g.l-1	μ mn-1	S g.l-1	μ mn-1
.02505•	.0088•	.01606	.0159	.00019•	.0019•	.01912	.0262
.03485•	.0081•	.01921	.0125	.00024	.0016	.01930	.0195
.04439	.0112	.01813	.0126	.00030	.0015	.01982•	.0116•
.00046	.0031	.01672	.0100	.00041•	.0011•	.02018	.0215
.00090	.0046	.01805	.0222	.00069	.0020	.02137	.0275
.00028	.0028	.02047	.0158	.00075	.0059	.02138•	.0109•
.00138	.0064	.02051	.0132	.00097	.0039	.02173	.0265
.00105	.0043	.01893	.0159	.00103	.0042	.02220	.0214
.00248	.0084	.01937•	.0083•	.00148	.0041	.02303	.0237
.00055	.0028	.02213	.0119	.00150	.0081	.02325•	.0140•
.00230	.0066	.02179	.0141	.00186	.0063	.02360	.0229
.00138	.0089	.02025	.0180	.00243	.0106	.02378	.0243
.00405	.0087	.02112	.0198	.00294	.0079	.02446	.0247
.00368	.0104	.02178	.0160	.00306	.0089	.02507	.0248
.00279	.0074	.02329	.0179	.00353	.0108	.02546	.0255
.00194	.0061	.02411	.0153	.00362	.0146	.02550	.0183
.00527	.0129	.02200•	.0055•	.00449	.0112	.02562	.0247
.00584	.0105	.02287	.0245	.00496	.0116	.02622	.0321
.00276	.0096	.02331	.0130	.00499	.0182	.02676	.0331
.00641	.0096	.02414	.0108	.00574	.0103	.02729	.0288
.00359	.0101	.02374	.0139	.00652	.0227	.02729	.0395
.00521	.0108	.02439	.0233	.00672	.0147	.02776	.0416
.00762	.0110	.02576	.0136	.00705	.0127	.02779	.0206
.00800	.0144	.02483	.0168	.00714	.0122	.02816	.0432
.00469	.0143	.02520	.0144	.00759	.0172	.02869	.0248
.00939	.0116	.02605	.0122	.00874•	.0108•	.02984	.0225
.00935	.0131	.02707	.0114	.00883	.0160	.03028	.0252
.00578	.0154	.02732	.0200	.00891	.0239	.03121	.0314
.00728	.0097	.02838	.0181	.00940	.0132	.03194	.0180
.00633	.0080	.02838	.0121	.01005	.0228	.03235	.0234
.01116	.0122	.02901	.0115	.01042•	.0113•	.03282	.0246
.01048	.0115	.02985	.0166	.01080	.0205	.03354	.0222
.00714	.0127	.03069	.0180	.01117	.0255	.03425	.0248
.00934	.0101	.03001	.0163	.01203	.0139	.03431	.0251
.00769	.0088	.03152	.0197	.01203	.0216	.03488	.0247
.01313	.0147	.03173•	.0051•	.01216•	.0125•	.03543	.0241
.01160	.0122	.03257	.0225	.01267	.0216	.03598	.0273
.00877	.0193	.03163	.0177	.01314	.0323	.03610	.0258
.01466	.0121	.03319	.0184	.01362•	.0110•	.03661	.0368
.00986	.0214	.03340•	.0063•	.01373	.0189	.03715	.0383
.01172	.0125	.03423•	.0288•	.01418•	.0121•	.03754	.0315
.01013•	.0055•	.03228•	.0073•	.01432	.0208	.03773	.0265
.01294	.0157	.03465	.0155	.01451	.0238	.03808•	.0564•
.01067	.0116	.03357	.0157	.01491	.0231	.03890	.0211
.01640	.0148	.03454	.0125	.01524•	.0131•	.04042	.0318
.01175•	.0261•	.03614	.0232	.01541	.0219	.04136	.0216
.01228	.0139	.03710	.0149	.01583	.0200	.04229	.0241
.01255•	.0072•	.03774	.0104	.01616	.0173	.04271•	.0117•
.01406	.0140	.03870	.0169	.01618	.0242	.04385	.0368
.01410	.0132	.03965	.0184	.01623•	.0121•	.04448	.0230
.01336	.0242	.04060	.0202	.01674	.0355	.04511	.0258
.01389	.0175	.04092•	.0070•	.01723	.0358	.04567	.0258
.01792	.0137	.04187	.0233	.01728	.0180	.04637	.0383
.01469•	.0302•	.04250	.0168	.01756	.0270	.04685	.0308

.01495	.0118	.04281•	.0088•	.01770	.0246	.04733	.0363
.01496	.0106	.04344	.0192	.01789	.0311	.04788	.0521
.01612	.0119	.04407	.0212	.01808•	.0116•	.04836•	.0587•
.01523	.0112			.01830•	.0480•		

• Points retirés de l'analyse après examen des résidus : 14 points écartés pour le milieu pauvre, 17 pour le milieu riche. Au total, il y a 115 points pour les deux milieux (avant retrait des points extrêmes). NB Les ajustements ont été réalisés en utilisant le logarithme des taux de croissance (modèle d'erreur relative constante).

6.10 VALEURS DES PARAMETRES

Les estimations publiées des paramètres μ_{max} et K_s sont rassemblées dans le tableau ci-dessous dans l'ordre alphabétique des espèces. Pour faciliter les comparaisons, μ_{max} a été exprimé en h^{-1} et K_s en µM chaque fois que cela était possible.

Espèce	Substrat limitant	μ_{max} h^{-1}	K_s µM	Référence
Achromobacter sp.				
A. sp.	Glucose			
	25°C	0.095	0.48	MECHSNER 84
	15 °C	0.046	0.49	
A. sp. 208	Glucose	0.35	17	JANNASCH 68
A. sp. 208	Lactate	0.15	11	JANNASCH 68
A. sp. 317	Glycerol	0.55	11	JANNASCH 67
Acinetobacter sp				
A. lwoffii	Phenol	0.7	254	BORIGHEM 81
Aerobacter sp				
A. aerogenes 169	Glucose			TOPIWALA 71
	25 °C	0.783	83	
	30 °C	1.09	67	
	35 °C	1.22	44	
	40 °C	1.30	39	
A. aerogenes ATCC 16092	Glucose	2.0	28	BRUNNER 67
A. aerogenes NCTC 418	Magnesium	1.20	23	DEAN 67
	Potassium	1.20	10	
	Sulphate	1.20	2.8	
A. cloacae NCTC 8197	Glycerol	0.85	135	HERBERT 56
A. sp. 412	Glycerol	1.2	120	JANNASCH 67
A. sp. 417	Glucose	0.45	28	JANNASCH 68
A. sp. 417	Lactate	0.5	66	JANNASCH 68
Arthrobacter sp.				
A. sp.	Butanol	0.335	1500	LUONG 87
Asterionella sp				
A. formosa	Phosphate	0.0246	0.006	TILMAN 82
		0.0375	0.02	TILMAN 82
		0.0254	0.02	TILMAN 76
		0.0279	0.07	HOLM 81
Brachionus sp				
B. calyciflorus	Chlamydomonas sphaeroides	~0.015	~1 mgC/l	ROTHHAUPT 88
	Monoraphidium minutum	~0.030	~1 mgC/l	
B. plicatilis	Chlorella	0.07	1.61	ENDO 79
large		0.04	10^6ce/ml	
small			1.47 10^6c/ml	
B. rubens	Chlamydomonas sphaeroides	~0.03	~1 mgC/l	ROTHHAUPT 88
	Monoraphidium minutum	~0.03	~1 mgC/l	
Candida sp.				
C. lipolytica	Acetate d'éthyle	0.335	11000	LUONG 87

C. utilis ATCC 8205	Butanol	0.554	1750	LUONG 87
C. utilis	Acetate	0.41	10000	LUONG 87
Cerataulina sp.				
C. bergonii	Phosphate			
	#1	0.046	0.03	FINENKO 74
	#2	0.018	0.06	
Chaetoceros sp.				
C. socialis	Phosphate			
	#1	0.064	0.012	FINENKO 74
	#2	0.055	0.003	
	#4	0.069	0.047	
C. curvisetus	Phosphate			
	#1	0.036	0.10	FINENKO 74
	#2	0.046	0.11	
	#3	0.046	0.11	
C. neglectum	Nitrate	0.022	1.4	SOMMER 86
	Silicium	0.022	21.7	
Corethron sp.				
C. criophilium	Nitrate	0.016	0.3	SOMMER 86
	Silicium	0.016	60.1	
Corynebacterium sp.				
C. sp. 198	Glucose	0.15	2.7	LAW 77
Coscinodiscus sp.				
C. granii	Phosphate	0.016	0.024	FINENKO 74
C. gigas	Phosphate	0.030	0.005	FINENKO 74
Cyclotella sp.				
C. meneghiniana	Phosphate	0.0225	0.25	TILMAN 76
	Silicium	0.038	1.44	
Debaromyces sp.				
D. subglobosus	Phenol	0.34	266	WASE 66
Desulfovibrio sp.				
D. sp. G11	Hydrogène	0.06	2	ROBINSON 83
Diatoma sp.				
D. elongatum	Phosphate	0.02	0.02	TILMAN 82
	Silicium	0.035	1.51	
Escherichia sp				
E. coli	Glucose			cf. chap. I
E. coli ML30G	Phosphate	0.75	17	SHEHATA 71
E. coli 415	Lactate	0.8	99	JANNASCH 68
E. coli ML30	Lactose	0.846	180	KOCH 75
E. coli NCTC 5933	Saccharose	0.52	42	RASOOL 82
E. coli B/1/f	Tryptophane	0.59	0.001	NOVICK 50
E. coli B/1	Tryptophane	0.59	0.005	NOVICK 50
E. coli TS-701	Tryptophane	0.75	0.034	SHEHATA 71
Fragilaria sp.				
F. crotonensis	Phosphate	0.0333	0.011	TILMAN 82
	Silicium	0.026	1.5	
Geotrichum sp.				
G. candidum F1	Glucose	0.37	6	FIDDY 75
Klebsiella sp.				

K. pneumoniae NCTC 418	Glucose	1.25	2	RUTGERS 87
K. oxytoca ATCC 8724	Arabinose	1.00	333	KOMPALA 85
	Fructose	0.94	56	
	Glucose	1.08	56	
	Lactose	0.95	13200	
	Xylose	0.82	1330	
K. oxytoca ATCC 8724	Ribitol	0.61	421	THOMPSON 83
K. pneumoniae	Glucose	1.07	56	DHURJATI 85
	Xylose	0.51	67	
Methylomonas sp.				
M. mucosa	Méthanol	0.913	200000	LUONG 87
Microcystis sp.				
M. aeruginosa	Phosphate	0.01	0.19	HOLM 81
Mycobacterium sp.				
M. tuberculosis	Glucose	0.025	25000	SCHAEFER 48
M. sp.	Ethene	0.09	0.39	VAN GINKEL 87
Nitrobacter sp.				
N. sp.	NH_3			KNOWLES 65
	19 °C	0.043	98	
	18 °C	0.035	110	
Nitrosomonas sp.				
N. sp.	NH3			KNOWLES 65
	19.0 °C	0.028	43	
	18.8 °C	0.027	43	
	27.0 °C	0.063	120	
Nitzschia sp.				
N. acicularis	Phosphate	0.054	0.48	TILMAN 82
N. kerguelensis	Nitrate	0.017	0.9	SOMMER 86
	Silicium	0.023	88.7	
N. cylindrus	Nitrate	0.025	4.2	SOMMER 86
	Silicium	0.025	8.4	
Oscillatoria sp.				
O. agardhii	Phosphate			
	15 °C	0.027	0.0058	TILMAN 82
	20 °C	0.023	0.0013	
	25 °C	0.023	0.0080	
	20 °C	0.036	0.0039	
Pseudomonas sp.				
P. methanica	Méthanol	0.206	0.15	LUONG 87
P. sp. 201	Lactate	0.8	33	JANNASCH 67
P. sp.	Naphtalène-2-sulfonate	0.503	25.6	WAGNER 88
P. synrigae	Propan-2-yl sulphate	0.2	0.1% (w/v)	CRESCENZI 85
Saccharomyces sp.				
S. cerevisiae	Glucose			
	16 °C	0.148	1140	ITOH 84
	20 °C	0.212	1340	
	23.6 °C	0.304	1320	
	30.0 °C	0.433	1380	
	35.5 °C	0.483	1600	
	37.7 °C	0.416	1350	
	39.0 °C	0.393	1420	

S. cerevisiae	Glucose			
	25°	0.22	716	JONES 70
	38 °C	0.25	1670	
S. cerevisiae	Glucose	0.4	278	DAVISON 86
S. cerevisiae	Saccharose	0.12	27500	CONVERTI 87
Salmonella sp.				
S. typhimurium LT2	Glucose			
	#1	0.55	4	SIMKINS 85
	#2	0.74	8	
	#3	1.05	10	
	#4	0.79	2	
	#5	0.61	1	
Serratia sp				
S. marinorubra	Lactate	1.1	165	JANNASCH 68
Skeletonema sp.				
S. costatum	Phosphate			
	#1	0.015	0.05	FINENKO 74
	#2	0.077	0.22	
	#3	0.088	0.01	
Spirillum sp.				
S. serpens	Lactate	0.34	24	JANNASCH 62
S. sp. 101	Lactate	0.6	33	JANNASCH 67
S. sp. 101	Lactate	0.45	33	JANNASCH 68
Staphylococcus sp.				
S. aureus SG 511	Glucose	1.4	56	BRUNNER 67
Streptomyces sp.				
S. aureofaciens SR11	Saccharose	0.13	63	RASOOL 82
Stephanodiscus sp.				
S. minutus	Silicium			
	10 °C	0.029	0.31	MECHLING 82
	15 °C	0.033	1.03	
	20 °C	0.031	0.88	
Synedra sp.				
S. filiformis	Phosphate	0.027	0.003	TILMAN 82
	Silicium	0.046	19.7	
S. ulna	Silicium			
	8 °C	0.007	4.9	TILMAN 82
	13 °C	0.030	3.8	
	20 °C	0.027	4.0	
	24 °C	0.0325	4.4	
Tabellaria sp.				
T. flocculosa	Phosphate	0.015	0.008	TILMAN 82
	Silicium	0.031	19.0	
Thalassiosira sp.				
T. subtilis	Nitrate	0.017	0.9	SOMMER 86
	Silicium	0.017	5.7	
Thiobacillus sp.				
T. ferrooxidans AK1	Fer	0.070	780	BRADDOCK 84
Trichoderma sp.				
T. viride	Glucose	0.1	51800	NIHTILA 77
Vibrio sp.				
V. sp. 204	Glucose	0.40	31	JANNASCH 68
V. sp. 204	Lactate	0.15	9	JANNASCH 68

Volvox sp.				
V. aureus	Phosphore			
	10 °C	0.019	0.23	SENFT 81
	15 °C	0.023	0.26	
	20 °C	0.042	1.22	
	25 °C	0.030	0.62	
	30 °C	0.027	0.20	
V. globator	Phosphore			
	10 °C	0.008	0.46	SENFT 81
	15 °C	0.026	1.24	
	20 °C	0.049	1.89	
	25 °C	0.031	0.48	
Xanthobacter sp.				
X. sp.	Propene	0.15	1.3	VAN GINKEL 87

6.11 PARAMETRES MONOD E. COLI GLUCOSE

Les paramètres du modèle de Monod pour *Escherichia coli* avec le glucose comme substrat limitant.

Souche	μ_{max} [h^{-1}]	K_s [$mg.l^{-1}$]	Référence
E. coli	0.94	4.0	MONOD 1941,1949
E. coli	0.92	73	SCHULZE et LIPE 1964
idem	1.05	99	idem
idem	1.07	92.5	BOYLE et BERTHOUEX 1974
idem	1.142	112.3	idem
E. coli (souche 415)	0.65	8.0	JANNASCH 1968
E. coli ML30 G	0.8 (a)	0.18 (a)	SHEHATA et MARR 1971
E. coli B/r CP366	1.04	0.18	VON MEYENBURG 1971
E. coli B/r CP367 (b)	1.04 (b)	126.0 (b)	idem
E. coli ML308	1.23	2.34	KOCH et WANG 1982
E. coli ML308 (c)	0.536 (c)	0.11 (c)	idem
E. coli 7020	0.55 (d)	8.5 ± 3.5 (d)	ISHIDA et al. 1982
E. coli mutabile CIP 54.157	0.47-0.49	0-0.8	ROCHET et FLANDROIS 1989
E. coli K12 CIP 54.117	0.29-0.32	0-1.2	idem
E. coli AB1133 CIP 70.59	0.39-0.45	2-5	idem
E. coli ML 30 (DSM 1329)	0.77	0.0465	SENN 1989
idem	1.71 (f)	≈1500 (f)	idem
E. coli K12 CIP 54.117	0.8 ± 0.04	1.43	COMBY et al. 1988
idem	0.77 ± 0.05	1.23	idem
E. coli ATCC 29194	0.92 ± 0.04	9.55	idem
E. coli K12 CIP 54.117	0.85 ± 0.01	2.5 ± 0.2 (e)	CORMAN et al. 1986
E. coli mutabile CIP 54.157	0.89	1.51	CORMAN et PAVE 1983
E. coli *B*	1.8	4.0 (g)	BRUNNER et al. 1967
E. coli	0.6	5	DAVISON et al. 1986
E. coli K12	0.756	7.24	DYKHUIZEN 1978
E. coli K12 CIP 54.117	0.75	1.5-2.0	COMBY et al. 1989
E. coli ATCC 29194	0.87	1.5-1.9	idem

(a) Estimation graphique d'après la figure n° 1. (b) Mutant $OmpR^-$ (kmt^-) déficient, entre autres, pour le transport des sucres (cf. CSONKA 1989). (c) Souche sélectionnée dans un chémostat (D=0.06 h^{-1}) pendant un mois. (d) Pour une concentration en glucose inférieure à 0.2 $g.l^{-1}$. (e) D'après Tableau I pour S_o = 0.1 $g.l^{-1}$. (f) Culture en cuvée. (g) Ces auteurs sont les seuls à retrouver exactement la même valeur que Monod (1941) pour le paramètre K_s.

6.12 ENERGIE DE MAINTENANCE

Valeurs rapportées de l'énergie de maintenance

Espèce	Energie de maintenance $\mu g.h^{-1}.(mg\ B)^{-1}$	Substrat	Température	Référence
Aerobacter aerogenes	76	Glycérol	-	PIRT 65
Aerobacter cloacae	94	Glucose	37°C	PIRT 65
Aerobacter cloacae	473	Glucose	37°C	PIRT 65
Bactérie lipolytique	300	Glycérol	-	PIRT 65
Debaromyces subglobosus	77**	Phénol	30°C	WASE 66
	79**	Phénol	30°C	WASE 66
Desulfovibrio vulgaris NCIB 8303	400	Lactate	30°C	TRAORE 83
	260	Lactate	30°C	TRAORE 83
	250	Pyruvate	30°C	TRAORE 83
Escherichia coli	55	Glucose	30°C	SCHULZE 64
Escherichia coli B	5.5	Glucose	37°C	McGREW 62
Escherichia coli ML30	41*	Glucose	30°C	MARR 63
Escherichia coli ML308 ATCC 15224	46.8	Glucose	40°C	WALLACE 86
	6.8	Glucose	37°C	WALLACE 86
	4.7	Glucose	30°C	WALLACE 86
	4.7	Glucose	25°C	WALLACE 86
Escherichia coli ML308 ATCC 15224	36.2	Glycérol	42°C	WALLACE 86
	21.3	Glycérol	40°C	WALLACE 86
	10.2	Glycérol	38.3°C	WALLACE 86
	9.5	Glycérol	37°C	WALLACE 86
	3.8	Glycérol	33.5°C	WALLACE 86
	3.5	Glycérol	30°C	WALLACE 86
	3.7	Glycérol	25°C	WALLACE 86
Escherichia coli ML308 ATCC 15224	29.4	Lactose	40°C	WALLACE 86
	12.7	Lactose	37°C	WALLACE 86
	4.5	Lactose	30°C	WALLACE 86
Escherichia coli C	54	Glucose	-	TEMPEST 1987
Escherichia coli B/r	46.8	Glucose	-	TEMPEST 1987
Escherichia coli ATCC 9001	30.6	Glucose	-	TEMPEST 1987
Escherichia coli	12.6	Glucose	-	TEMPEST 1987
Escherichia coli PS	64*	Glucose	30°C	MARR 63
Escherichia coli PS	11*	Glucose	15°C	MARR 63
Methylomonas L3	100	Méthanol	-	CHU 87

* Avec R_{max} = 0.44 mg biomasse/mg Glucose.

** Avec R_{max} = 0.1 mg biomasse/µmol Phénol

7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABORHEY, S., WILLIAMSON, D. (1978) State and parameter estimation of microbial growth processes. *Automatica*, **14** : 493-498

AGREN, G.I. (1988) Ideal nutrient productivities and nutrient proportions in plant growth. *Plant Cell and Environment*, **11** : 613-620

ALLEN, M.B. (1950) The dynamic nature of thermophily. *The Journal of General Physiology*, **33** : 205-214

ANDREWS, J.F. (1968) A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. *Biotechnology & Bioengineering*, **10** : 707-723

BADER, F.G. (1978) Analysis of double substrate limited growth. *Biotechnology & Bioengineering*, **20** : 183-202

BALTZIS, B.C., FREDRICKSON, A.G. (1984) Coexistence of two microbial populations competing for a renewable ressource in a non-predator prey system. *Bulletin of Mathematical Biology*, **46** : 155-174

BATES, D.M. & WATTS, D.G. (1988) *Nonlinear regression analysis and its applications*. John Wiley & sons éd., New York. ISBN 0-471-81643-4

BAUCHOP, T., ELSDEN, S.R. (1960) The growth of microorganisms in relation to their energy supply. *Journal of General Microbiology*, **23** : 457-469

BAZIN, M.J. (1978) Predator-prey interactions between protozoa and bacteria. *Annals of Applied Biology*, **89** : 159-162

BEALE, E.M.L. (1960) Confidence regions in non-linear estimation. *Journal of the Royal Statistical Society*, **22B** : 41-88

BELL, C.R., HOLDER-FRANKLIN, M.A., FRANKLIN, M. (1982) Seasonal fluctuations in river bacteria as measured by multivariate analysis of continuous cultures. *Canadian Journal of Microbiology*, **28** : 959-975

BERMUDEZ, J., LOPEZ, D., VALLS, J., WAGENSBERG, J. (1989) On the analysis of microbiological processes by Monte Carlo simulation techniques. *CABIOS*, **5** : 305-312

BLACKMAN, F.F. (1905) Optima and limiting factors. *Annals of Botany*, **19** : 281-295

BLANCH, H.W. (1981) Microbial growth kinetics. *Chemical Engineering Communication*, **8** : 181-211

BORIGHEM, G., VEREECKEN, J. (1981) Model of a chemostat uilizing phenol as inhibitory substrate. *Ecological Modelling*, **12** : 231-243

BOYLE, W.C., BERTHOUEX, P.M. (1974) Biological wastewater treatment model building fits and misfits. *Biotechnology & Bioengineering*, **16** : 1139-1159

BRADDOCK, J.F., LUONG, H.V., BROWN, E.J. (1984) Growth kinetics of Thiobacillus ferrooxidans isolated from arsenic mine drainage. *Applied and Environmental Microbiology*, **48** : 48-55

BRANNAN, D.K., CLADWELL, D.E. (1986) Ecology and metabolism of Thermothrix thiopara. *Advances in Applied Microbiology*, **31** : 233-270

BRAUN, H.B., BERTHOUEX, P.M. (1970) Analysis of lag phase BOD curves using the Monod equations. *Water Ressources Research*, **6** : 838-844

BRETON, P. (1990) *Une histoire de l'informatique*, Editions du Seuil, Paris, ISBN 2-02-012348-7
BRIGGS, G.E., HALDANE, J.B.S. (1925) A note on the kinetics of enzyme action. *Biochemical Journal*, **19** : 338-339
BROWN, K.M., DENNIS, J.E. (1972) Derivative free analogues of the Levenberg-Marquardt and Gauss algorithms for nonlinear least squares approximations. *Numerische Mathematik*, **18** : 289-297
BRUNNER, R., OBERZILL, W., MATSCHE, N. (1967) Untersuchungen über den Einfluss von subbakteriostatischen Chloramphenicolkonzentrationen auf bakterielles Wachstum in continuierlicher Kultur. *Monatshefte für Chemie*, **98** : 1332-1343
BRUNNER, W., FOCHT, D.D. (1984) Deterministic three-half-order kinetic model for microbial degradation of added carbon substrates in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, **47** : 167-172
BUCHANAN, R.E. (1918) Life phases in a bacterial culture. *Journal of Infectious Diseases*, **23** : 109-125
BURTON, A.C. (1936) The basis of the principle of the master reaction in biology. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, **9** : 1-14
BUSH, A.W., COOK, A.E. (1976) The effect of time delay and growth rate inhibition in the bacterial treatment of wastewater. *Journal of Theoretical Biology*, **63** : 385-395
BUTLER, G.J., HSU, S.B., WALTMAN, P. (1983) Coexistence of competing predators in a chemostat. *Journal of Mathematical Biology*, **17** : 133-151
BUTLER, G.J., WOLKOWICZ, G.S.K. (1985) A mathematical model of the chemostat with a general class of functions describing nutrient uptake. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, **45** : 138-151
BUTLER, G.J., WOLKOWICZ, G.S.K. (1986) Predator-mediated competition in the chemostat. *Journal of Mathematical Biology*, **24** : 167-191
BUTLER, G.J., WOLKOWICZ, G.S.K. (1987) Exploitative competition in a chemostat for two complementary, and possibly inhibitory, ressources. *Mathematical Biosciences*, **83** : 1-48
CAPERON, J. (1967) Population growth in micro-organisms limited by food supply. *Ecology*, **48** : 715-722
CARLSON, G.L. (1977) Regulatory phenomena and the data of growth. *Growth*, **41** : 25-32
CHASSE, J.L., DEBOUZIE, D. (1974) Utilisation des tests de Kiveliovitch et Vialar dans l'étude de quelques générateurs de nombres pseudo-aléatoires. *Revue de Statistique Appliquée*, **22** : 83-90
CHU, I.M., PAPOUTSAKIS, E.T. (1987) Growth dynamics of a methylotroph (Methylomonas L3) in continuous culture. II. Growth inhibition and comparison against an unstructured model. *Biotechnology & Bioengineering*, **29** : 65-71
CLEGG, R.A., LIGHT, P.A. (1971) Growth yields of Torulopsis utilis grown in continuous culture with glycerol or iron as growth limiting nutrient. *Biochemical Journal*, **124** : 152-154
COHEN, G.N., MUNIER, R. (1959) Effet des analogues structuraux d'aminoacides sur la croissance, la synthèse de protéines et la synthèse d'enzymes chez Escherichia coli. *Biochimica Biophysica Acta*, **31** : 347-356
COMBY, S., FLANDROIS, J.P., CARRET, G., PICHAT, C. (1988) Mathematical bacterial growth modelling at subinhibitory levels of aminoglycosides. *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiology*, **139** : 613-629
COMBY, S., FLANDROIS, J.P., CARRET, G., PICHAT, C. (1989) Mathematical modelling of growth of Escherichia coli at subinhibitory levels of chloramphenicol or tetracyclines. *Research in Microbiology*, **140** : 243-254
COMBY, S. (1989) *Analyse de la croissance bactérienne en présence de concentrations subinhibitrices d'antibiotiques : pour une acquisition et une application de la connaissance en bactériologie médicale*, Thèse de doctorat n° 42-89, Lyon.
CONTOIS, D.E. (1959) Kinetics of bacterial growth: relationship between population density and specific growth rate of continuous cultures. *Journal of General Microbiology*, **21** : 40-50
CONVERTI, A., BORGHI, M.D., ZILI, M., FERRAIOLO, G. (1987) Kinetics of alcohol fermentations carried out in rotating biological surface reactors. *Biotechnology & Bioengineering*, **29** : 16-23
CORMAN, A., CARRET, G., PAVE, A., FLANDROIS, J.P., COUIX, C. (1986) Bacterial growth measurment using an automated system : mathematical modelling and analysis of growth kinetics. *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiology*, **137B** : 133-143
CORMAN, A., PAVE, A. (1983) On parameter estimation of Monod's bacterial growth model from batch culture data. *Journal of General and Applied Microbiology*, **29** : 91-101
CRESCENZI, A.M.V., DODGSON, K.S., WHITE, G.F., PAYNE, W.J. (1985) Initial oxidation and subsequent desulphation of propan-2-yl sulfate by Pseudomonas synrigae strain GG. *Journal of General Microbiology*, **131** : 469-477
CRICK, F. (1976) Obituary. *Nature*, **262** : 429-430
CRITCHLEY, I.A., BASKER, M.J. (1988) Conventionnal laboratory agar media provide an iron-limited environement for bacterial growth. *FEMS Microbiology Letters*, **50** : 35-39
CROWLEY, P.H. (1975) Natural selection and the Michaelis constant. *Journal of Theoretical Biology*, **50** : 461-475
CROWLEY, P.H., STRALEY, S.C., CRAIG, R.J., CULIN, J.D., FU, Y.T., HAYDEN, T.L., ROBINSON, T.A., STRALEY, J.P. (1980) A model of prey bacteria, predator bacteria, and bacteriophage in continuous culture. *Journal of Theoretical Biology*, **86** : 377-400

CSONKA, L.N. (1989) Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiological Reviews*, **53** : 121-147

CURDS, C.R., COCKBURN, A. (1968) Studies on the growth and feeding of Tetrahymena pyriformis in axenic and monoxenic culture. *Journal of General Microbiology*, **54** : 343-358

DABES, J.N., FINN, R.K., WILKE, C.R. (1973) Equation of substrate-limited growth: the case for Blackman kinetics. *Biotechnology & Bioengineering*, **15** : 1159-1177

DAVISON, B.H., STEPHANOPOULOS, G. (1986) Coexistence of Saccharomyces cerevisiae and Escherichia coli in chemostat under substrate competition and product inhibition. *Biotechnology & Bioengineering*, **28** : 1742-1752

DAVISON, B.H., STEPHANOPOULOS, G. (1986) Effect of pH oscillations on a competing mixed culture. *Biotechnology & Bioengineering*, **28** : 1127-1137

DAWES, E.A., RIBBONS, D.W. (1964) Some aspects of the endogenous metabolism of bacteria. *Bacteriological Reviews*, **28** : 126-149

DAWKINS, R. (1990) *Le gène égoiste*, seconde édition, Armand Colin, Paris, ISBN 2-200-24022-8

DEAN, A.C.R., ROGERS, P.L. (1967) The cell size and macromolecular composition of Aerobacter aerogenes in various sytems of continuous culture. *Biochimica Biophysica Acta*, **148** : 267-279

DENT, V.E., BAZIN, M.J., SAUNDERS, P.T. (1976) Behaviour of *Dictyostelium discoideum* amoebae and *Escherichia coli* grown together in chemostat culture. *Archives of Microbiology*, **109** : 187-194

DEGN, H., HARRISON, D.E.F. (1969) Theory of ocillations of respiration rate in continuous culture of Klebsiella aerogenes. *Journal of Theoretical Biology*, **22** : 238-248

DHURJATI, P., RAMKRISHNA, D., FLICKINGER, M.C., TSAO, G.T. (1985) A cybernetic view of microbial growth: modeling of cells as optimal strategists. *Biotechnology & Bioengineering*, **27** :1-9

DOCHAIN, D. (1986) *On-line parameter estimation, adaptative state estimation and adaptative control of fermentation processes*, Thèse de doctorat en sciences appliquées, Université catholique de Louvain.

DRAKE, J.F., TSUCHIYA, H.M. (1977) Growth kinetics of Colpoda steinii on Escherichia coli. *Applied and Environmental Microbiology*, **34** : 18-22

DROOP, M.R. (1983) 25 years of algal growth kinetics. A personal view. *Botanica Marina*, **26** : 99-112

DYKHUIZEN, D. (1978) Selection for tryptophan auxotrophs of Escherichia coli in glucose-limited chemostats as a test of the energy conservation hypothesis of evolution. *Evolution*, **32** : 125-150

ECKER, R.E., LOCKHART, W.R. (1961) Relationships between initial nutrient concentration and total growth. *Journal of Bacteriology*, **82** : 80-84

EDWARDS, V.H., WILKE, C.R. (1968) Mathematical representation of batch culture data. *Biotechnology & Bioengineering*, **10** : 205-232

ENDO, K., MOCHIZUKI, T. (1979) Relation between specific growth rate of rotifer Brachionus plicatilis and concentration of food marine species of chlorella. *Journal of Fermentation Technology*, **57** : 372-374

ERNI, B. (1989) Glucose transport in Escherichia coli. *FEMS Microbiology Reviews*, **63** : 13-24

ESENER, A.A., ROELS, J.A., KOSSEN, N.W.F. (1983) Theory and application of unstructured growth models: kinetic and energetic aspects. *Biotechnology & Bioengineering*, **25** : 2803-2841

FANTINI, B. (1990) Jacques Monod et les origines de la biologie moléculaire. *La Recherche*, **218** : 180-187

FEYNMAN, R. (1987) *Lumière et matière*, InterEditions, Paris, ISBN 2-7296-0154-6

FIDDY, C., TRINCI, A.P.S. (1975) Kinetics and morphology of glucose-limited cultures of moulds grown in a chemostat and on solid media. *Archives of Microbiology*, **103** : 191-198

FINENKO, Z.Z., KRUPATKINA-AKININA, D.K. (1974) Effect of inorganic phosphorus on the growth rate of diatoms. *Marine Biology*, **26** : 193-201

FRALEIGH, S.P., BUNGAY, H.R. (1986) Modelling nutrients gradients in bacterial colony. *Journal of General Microbiology*, **132** : 2057-2060

FREDRICKSON, A.G. (1977) Behavior of mixed cultures of microorganisms. *Annual Review of Microbiology*, **31** : 63-87

FREDRICKSON, A.G., JOST, J.L., TSUCHIYA, H.M., HSU, P.H. (1973) Preydator-Prey interactions between malthusian populations. *Journal of Theoretical Biology*, **38** : 487-526

FRETER, R., OZAWA, A. (1963) Explanations for limitation of populations of *Escherichia coli* in broth cultures. *Journal of Bacteriology*, **86** : 904-910

FUJIMOTO, Y. (1963) Kinetics of microbial growth and substrate consumption. *Journal of Theoretical Biology*, **5** : 171-191

FUNAKOSHI, H., YAMADA, A. (1980) Transition phenomena in bacterial growth between logarithmic and stationary phases. *Journal of Mathematical Biology*, **9** : 369-387

GARFIELD, E. (1990) The most-cited papers of all times. *Current Contents/Life Sciences*, **33** : 3-15

GATES, W.E., MARLAR, J.T. (1968) Graphical analysis of batch culture data using the Monod expressions. *Journal Water Pollution Control Federation*, **40** : R469-R476

GIBSON, A.M., BRATCHELL, N., ROBERTS, T.A. (1987) The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extend of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *Journal of Applied Bacteriology* **62** : 479-490

GILBERT, P. (1985) The theory and relevance of continuous culture. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **15A** : 1-6

GILBERT, P. (1991) Defining growth-rate in the presence of sublethal concentrations of antimicrobial agent. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **27** : 144-145

GLASBEY, C.A. (1980) Nonlinear regression with autoregressive time series error. *Biometrics*, **36** : 135-140

GOLOVLEV, E.L., IVANITSKAYA, Y.G., KESHELAVA, V.B. (1986) Mechanism of growth limitation of a recombinat strain. *Microbiology*, **55** : 621-626

GOMA, G., MOLETTA, R., NOVAK, M. (1979) Comments on the 'maintenance coefficient' changes during alcohol fermentation. *Biotechnology Letters*, **1** : 415-420

GOMMERS, P.J.F., VAN SCHIE, B.J., VAN DIJKEN, J.P., KUENEN, J.G. (1988) Biochemical limits to microbial growth yields: an analysis of mixed substrates utilization. *Biotechnology & Bioengineering*, **32** : 86-94

GOMPERTZ, B. (1825) On the nature of the function expressive of the law of human mortality and on a new mode of determining the value of life contingencies. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, **115** : 513-585

GOULD, I.M., JASON, A.C., MILNE, K. (1989) Use of the Malthus microbial growth analyser to study the post antibiotic effect of antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **24** : 523-531

GREAVES, J.E., GREAVES, J.D., HICKMAN, I. (1934) The growth and metabolism of mixed cultures of amonia-producing microörganisms. Journal of Bacteriology, **28** : 159-167

GREENWOOD, D. (1977) In defense of turbidimetry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **3** : 286-287

GRIFFITH, C.J., MELVILLE, T.H. (1974) Growth of oral Streptococci in a chemostat. *Archives of Oral Biology*, **19** : 87-90

GYLLENBERG, M. (1982) Nonlinear age-dependant population dynamics in continuously propagated bacterial cultures. *Mathematical Biosciences*, **62** : 45-74

HADJIPETROU, L.P., STOUTHAMER, A.H. (1963) Autolysis of Bacillus subtilis by glucose depletion. *Antonie van Leeuwenhoek*, **29** : 256-260

HAN, K., LEVENSPIEL, O. (1988) Extended Monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition. *Biotechnology & Bioengineering*, **32** : 430-437

HANSCHE, P.E. (1969) A theoretical basis for the entrainment of chemostat populations. *Journal of Theoretical Biology*, **24** : 335-350

HARRIS, C.M., KELL, D.B. (1985) The estimation of microbial biomass. *Biosensors*, **1** : 17-84

HARRISON, G.W. (1979) Global stability of predator-prey interactions. *Journal of Mathematical Biology*, **8** : 159-171

HARTE, J. (1982) Modeling lake-water mineralization processes. *Journal of Theoretical Biology*, **99** : 553-569

HEALEY, F.P. (1980) Slope of the Monod equation as an indicator of advantage in nutrient competition. *Microbial Ecology*, **5** : 281-286

HEGEWALD, E.M., KNORRE, W.A. (1978) Kinetics of growth and substrate consumption of Escherichia coli ML30 on two carbon sources. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie*, **18** : 415-426

HELLING, R.B., VARGAS, C.N., ADAMS, J. (1987) Evolution of Escherichia coli during growth in a constant environment. *Genetics*, **116** : 349-358

HERBERT, D., ELSWORTH, R., TELLING, R.C. (1956) The continuous culture of bacteria; a theoretical and experimental study. *Journal of General Microbiology*, **14** : 601-622

HERZENBERG, L.A. (1959) Studies on the induction of β-galactosidase in a cryptic strain of Escherichia coli. *Biochimica et Biophysica Acta*, **31** : 525-538

HJORTSO, M.A., BAILEY, J. (1982) Steady-state growth of budding yeast populations in well-mixed continuous-flow microbial reactor. *Mathematical Biosciences*, **60** : 235-263

HO, S.V., SHULER, M.L. (1977) Prediction of cellular growth patterns by a feedback model. *Journal of Theoretical Biology*, **68** : 415-435

HOCHBERG, M.S., FOLKMAN, J. (1972) Mechanism of size limitation of bacterial colonies. *The Journal of Infectious Diseases*, **126** : 629-635

HOLM, N.P., ARMSTRONG, D.E. (1981) Role of nutrient limitation and competition in controlling the population of Asterionella formosa and Microcystis aeruginosa in semicontinuous cultures. *Limnology Oceanography*, **26** : 622-634

HOLMS, W.H. (1986) The central metabolic pathway of Escherichia coli: relationship between flux and control at a branch point, efficiency of conversion to biomass, and excretion of acetate. Current Topics in Cellular Regulation, **28** : 69-105

HOLMBERG, A. (1982) On the practical identifiability of microbial growth models incorporating Michaelis-Menten type Nonlinearities. *Mathematical Biosciences*, **62** : 23-43

HOLMBERG, A., RANTA, J. (1982) Procedures for parameter and state estimation of microbial growth process models. *Automatica*, **18** : 181-193

HOLMBERG, A., SIEVANEN, R., CARLBERG, G. (1980) Fermentation of Bacillus thuringiensis for exotoxin production: process analysis study. *Biotechnology & Bioengineering*, **22** : 1707-1724

HSU, J.P. (1988) Biodegradation of solid substrate: effect of random initial condition. *Journal of Theoretical Biology*, **132** : 381-386

HSU, S.B., HUBBELL, S.P., WALTMAN, P. (1977) A mathematical theory of single-nutrient competition in continuous cultures of microorganisms. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, **32** : 366-383

HUETING, S., DELANGE, T., TEMPEST, D.W. (1979) Energy requirement for maintenance of the transmembrane potassium gradient in Klebsiella aerogenes NCTC 418 : a continuous culture study. *Archives of Microbiology*, **123** : 183-188

ISHIDA, Y., IMAI, I., MIYAGAKI, T., KADOTA, H. (1982) Growth and uptake kinetics of a facultatively oligotrophic bacterium at low nutrient concentrations. *Microbial Ecology*, **8** : 23-32

ITOH, S., TAKAHASHI, K. (1984) Calorimetric studies of microbial growth: kinetic analysis of growth thermograms observed for barkery yeast at various temperature. *Agricultural and Biological Chemistry*, **48** : 271-275

JACOB, F. (1987) *La statue intérieure*. Editions du Seuil, Paris, ISBN 2-02-009448-7

JANNASCH, H.W. (1962) Bacterial growth at low population densities. *Nature*, **196** : 496-497

JANNASCH, H.W. (1967) Enrichments of aquatic bacteria in continuous culture. *Archives of Microbiology*, **59** : 165-173

JANNASCH, H.W. (1968) Competitive elimination of enterobacteriaceae from seawater. *Applied Microbiology*, **16** : 1616-1618

JASON, A.C. (1983) A deterministic model for monophasic growth of batch cultures of bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, **49** : 513-536

JEAN, R.V. (1990) *Une approche mathématique de la biologie*, Gaëtan Morin éd., Canada, ISBN 2-89105-193-9

JOBSES, I.M.L., EGBERTS, G.T.C., VAN BAALEN, A., ROELS, J.A. (1985) Mathematical modeling of growth and substrate conversion of Zymomonas mobilis at 30 °C and 35 °C. *Biotechnology & Bioengineering*, **27** : 984-995

JOLIVET, E. (1983) *Introduction aux modèles mathématiques en biologie*, Masson éd., Paris, ISBN 2-225-78188-5

JONES, G.L. (1973) Role of protozoa in waste purification systems. *Nature*, **243** : 546-547

JONES, R.C., HOUGH, J.S. (1970) The effect of temperature on the metabolism of Baker's yeast growing on continuous culture. *Journal of General Microbiology*, **60** : 107-116

JOST, J.L., DRAKE, J.F., FREDRICKSON, A.G., TSUCHIYA, H.M. (1973) Interactions of Tetrahymena pyriformis, Escherichia coli, Azotobacter vinelandii, and glucose in a minimal medium. *Journal of Bacteriology*, **113** : 834-840

JOST, J.L., DRAKE, J.F., TSUCHIYA, H.M., FREDRICKSON, A.G. (1973) Microbial food chains and food Webs. *Journal of Theoretical Biology*, **41** : 461-484

KARGI, F. (1977) Effect of cooperativity on microbial growth. *Journal of Applied Chemistry and Biotechnology*, **27** : 704-707

KATARAO, A., OKUNO, H., TAKAHASHI, K. (1988) Calorimetric analysis of the effects of penicillin G, ampicillin and polymyxin B on the growth of Escherichia coli. Agricultural and Biological Chemistry, **52** : 2279-2285

KEENER, J.P. (1983) Oscillatory coexistence in the chemostat : a codimension two unfolding. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, **43** : 1005-1019

KEENER, J.P. (1985) Oscillatory coexistence in a food chain model with competing predators. *Journal of Mathematical Biology*, **22** : 123-135

KESSICK, M.A. (1974) The kinetics of bacterial growth. *Biotechnology & Bioengineering*, **16** : 1545-1547

KIM, S.U., KIM, D.C., DHURJATI, P. (1988) Mathematical modeling for mixed culture growth of two bacterial populations with opposite substrate preferences. *Biotechnology & Bioengineering*, **31** : 144-159

KLECKA, G.M., MAIER, W.J. (1988) Kinetics of microbial growth on mixtures of pentachlorophenol and chlorinated aromatic componds. *Biotechnology & Bioengineering*, **31** : 328-335

KNOWLES, G., DOWNING, A.L., BARRETT, M.J. (1965) Determination of kinetic constants for nitrifying bacteria in mixed culture, with the aid of an electronic computer. *Journal of General Microbiology*, **38** : 263-278

KOCH, A.L. (1961) Some calculations on the turbidity of mitochondria and bacteria. *Biochimica Biophysica Acta*, **51** : 429-441

KOCH, A.L. (1968) Theory of the angular dependance of light scattered by bacteria and similar sized biological objects. *Journal of Theoretical Biology*, **18** : 133-156

KOCH, A.L. (1970) Turbidity measurment of bacterial cultures in some available commercial instruments. *Analytical Biohemistry*, **38** : 252-259

KOCH, A.L. (1972) Deviations from hyperbolic dependency of transport processes. *Journal of Theoretical Biology*, **36** : 23-40

KOCH, A.L. (1974) Competitive coexistence of two predators utilizing the same prey under constant environmental condition. *Journal of Theoretical Biology*, **44** : 387-395
KOCH, A.L. (1975) Lag in adaptation to lactose as a probe to the timing of permease incorporation into the cell membrane. *Journal of Bacteriology*, **124** : 435-444
KOCH, A.L. (1982) Multistep kinetics: choice of model for the growth of bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, **98** : 401-417
KOCH, A.L., WANG, C.H. (1982) How close to the theoretical diffusion limit do bacterial uptake systems function? *Archives of Microbiology*, **131** : 36-42
KOLKER, Y. (1987) A picewise-linear growth model: comparison with competing forms in batch culture. *Journal of Mathematical Biology*, **25** : 543-551
KOMPALA, D.S., RAMKRISHNA, D., JANSEN, N.B., TSAO, G.T. (1986) Investigation of bacterial growth on mixed substrates: experimental evaluation of cybernetic models. *Biotechnology & Bioengineering*, **28** : 1044-1055
KONAK, A.R. (1974) Derivation of a generalised Monod equation and its application. *Journal of Applied Chemistry and Biotechnology*, **24** : 453-455
KREIKENBOHM, R., BOHL, E. (1986) A mathematical model of syntrophic cocultures in the chemostat. *FEMS Microbiology Ecology*, **38** : 131-140
KUHN, T.S. (1983) *La structure des révolutions scientifiques*. Flammarion éd., ISBN 2-08-081115-0
KUHN, T.S. (1990) *La tension essentielle, tradition et changement dans les sciences*. Gallimard éd., Paris, ISBN 2-07-071816-6
LAMANNA, C. (1963) Studies on endogenous metabolism in bacteriology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **102** : 517-520
LAUDELOUT, H., LAMBERT, R., FRIPIAT, J.L., PHAM, L.M. (1974) Effet de la temperature sur la vitesse d'oxydation de l'ammonium en nitrate par des cultures mixtes de nitrifiants. *Annales de Microbiologie de l'Institut Pasteur*, **125B** : 75-84
LAW, A.T., BUTTON, D.K. (1977) Multiple-carbon-source-limited growth kinetics of a marine coryneform organism. *Journal of Bacteriology*, **129** : 115-123
LAW, A.T., BUTTON, D.K. (1986) Modulation of affinity of marine Pseudomonad for toluene and benzene by hydrocarbon exposure. *Applied and Environmental Microbiology*, **51** : 469-476
LEDERMAN, T.C., HORNBERGER, G.M., KELLY, M.G. (1976) The calibration of a phytoplankton growth model using batch culture data. *Water Air and Soil Pollution*, **5** : 431-442
LEGAY, J.M. (1968) Eléments d'une théorie générale de la croissance d'une population. *Bulletin of Mathematical Biophysics*, **30** : 33-46
LEGUAY, J.J., GUERN, J. (1975) Quantitative effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid on growth suspension cultured Acer pseudoplatanus cells. *Plant Physiology*, **56** : 356-359
LEVEAU, J.Y., BOUIX, M. (1988) *Cinétiques microbiennes*, *in* Biotechnologie, pp 203-229, Lavoisier éd., Paris, ISBN 2-85206-440-5
LEVENBERG, K. (1944) A method for the solution of certain nonlinear problems in least squares. *Quartely of Applied Mathematics*, **2** : 164-168
LEVENSPIEL, O. (1980) The Monod equation: a revisit and a generalization to product inhibition situations. *Biotechnology & Bioengineering*, **22** : 1671-1687
LINEWEAVER, H., BURK, D. (1934) The determination of enzyme dissociation constants. *Journal of the American Chemical Society*, **56** : 658-666
LIORET, C. (1974) L'analyse des courbes de croissance. *Physiologie végétale*, **12** : 413-434.
LOBRY, J.R., FLANDROIS, J.P. (1991) Comparison of estimates of Monod's growth model parameters from the same data set. *Binary*, **3** : 20-23
LOBRY, J.R., FLANDROIS, J.P., CARRET, G., PAVE, A. (1991) Monod's bacterial growth model revisited. *Bulletin of Mathematical Biology*, sous presse
LOBRY, J.R., ROSSO, L., FLANDROIS, J.P. (1991) A FORTRAN subroutine for the determination of parameter confidence limits in non-linear models. Binary, **3** : 86-93
LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193** : 265-275
LUEDEKING, R., PIRET, E.L. (1959) A kinetic study of the lactic acid fermentation. Batch process at controlled pH. *Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering*, **1** : 393-412
LULI, G.W., STROHL, W.R. (1990) Comparison of growth, acetate production, and acetate inhibition of Escherichia coli strains in batch and fed-batch fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, **56** : 1004-1001
LUONG, J.H.T. (1987) Generalization of Monod kinetics for analysis of growth data with substrate inhibition. *Biotechnology & Bioengineering*, **29** : 242-248
MACDONALD, N. (1978) Time lags in biological models. *Lectures Notes in Biomathematics*, **27** : 1-110
MALLETTE, M.F. (1963) Validity of the concept of energy of maintenance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **102** : 521-535

MALTHUS, T.R. (1872) *An essay on the principle of population or a view of its past and present effects on human happiness*, Reeves & Turner, London

MANKAD, T., BUNGAY, H.R. (1988) Model for microbial growth with more than one limiting nutrient. *Journal of Biotechnology*, **7** : 161-166

MARQUARDT, D.W. (1963) An algorithm for the estimation of non-linear parameters. *SIAM Journal*, **11** : 431-441

MARR, A.G., NILSON, E.H., CLARK, D.J. (1963) The maintenance requirement of Escherichia coli. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **102** : 536-548

MARR, A.G. (1991) Growth rate of *Escherichia coli*. *Microbiological Reviews*, **55** : 316-333

MATELES, R.I., BATTAT, E. (1974) Continuous culture used for media optimisation. *Applied Microbiology*, **28** : 901-905

MAYER, R.C., ROULEAU, D., ROYER, G. (1982) Biotraitement aérobie, en réacteur complètement agité, d'une eau résiduaire de laiterie. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, **60** : 635-641

McGREW, S.B., MALLETTE, M.F. (1962) Energy of maintenance in Escherichia coli. *Journal of Bacteriology*, **83** : 844-850

MECHLING, J.A., KILHAM, S.S. (1982) Temperature effects on silicon limited growth of the lake michigan diatom Stephanodiscus minutus. *Journal of Phycology*, **18** : 199-205

MECHSNER, K.L. (1984) An automated nephelometric system for evaluation of the growth of bacterial cultures. *Analytica Chimica Acta*, **163** : 85-90

MERCER, L.P., BEHR, S.M., CARTER, J. (1982) A mathematical model for nutrition in toxicology. *Nutrition Reports International*, **26** : 115-120

MEYER, R. (1975) Zur Theorie des Keimwachstums als Funktion der Zeit und der Konzentration. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene Abteilung Series A - Medical Microbiology Infectious Diseases Virology Parasitology*, **232** : 512-520

MICHAELIS, L., MENTEN, M.L. (1913) Die kinetik der Invertinwirkung. *Biochemische Zeitschrift*, **49** : 333-369

MILLIER, C. (1982) Courbes de réponse *in* Modèles dynamiques déterministes en biologie, Masson éd., Paris, ISBN 2-225-75933-2

MITSUHASHI, S., TAKEUCHI, S. (1951) On the bacterial growth by shaking culture method. *Japan Journal of Experimental Medicine*, **21** : 1-5.

MIZRAJI, E., LIN, J. (1982) Migration of enzymes on linear polymers. *Journal of Theoretical Biology*, **96** : 561-569

MONOD, J. (1935) Le taux de croissance en fonction de la concentration de l'aliment dans une population de Glaucoma pyriformis. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, **201** : 1513-1515

MONOD, J., TEISSIER, G. (1936) La concentration de l'aliment, facteur quantitatif de l'accroissement des populations d'infusoires. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, **202** : 162-164

MONOD, J. (1937) Ration d'entretien et ration de croissance dans les populations bactériennes. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, **205** : 1456-1457

MONOD, J. (1941) *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*, Thèse de docteur ès sciences naturelles, n° 2847, Paris.

MONOD, J. (1941b) Croissance des populations bactériennes en fonction de la concentration de l'aliment hydrocarbonné. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, **212** : 771-773

MONOD, J. (1942) *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*, Herman éd., Paris.

MONOD, J.(1942b) Sur un phénomène de lyse lié à l'inanition carbonnée. *Annales de l'Institut Pasteur*, **68** : 444-451

MONOD, J. (1943) Influence de la concentration des substrats sur la rapidité d'adaptation chez le *Bacillus coli*. *Annales de l'Institut Pasteur*, **69** : 179-181

MONOD, J. (1949) The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*, **3** : 371-394

MONOD, J. (1950) La technique de la culture continue : théorie et applications. *Annales de l'Institut Pasteur*, **79** : 390-410

MONOD, J., WYMAN, J., CHANGEUX, J.P. (1965) On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *Journal of Molecular Biology*, **12** : 88-118

MOPPER, K. (1980) The monosaccharide spectra of natural waters. *Marine Chemistry*, **10** : 55-66

MORGAN, P.H., MERCER, L.P., FLODIN, N.W. (1975) General model for nutritional responses of higher organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **72** : 4327-4331

MORIN, F., MONOD, J. (1942) Sur l'expression analytique de la croissance des populations bactériennes. *La Revue Scientifique*, **1942** : 227-229

MORRISON, K.A., THERIEN, N., MARCOS, B. (1987) Comparison of six models for nutrient limitations on phytoplankton growth. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **44** : 1278-1288

MOUSSEAU, L. (1985) *Modélisation de la croissance bactérienne : étude d'un système expérimental*. Diplôme de pharmacie, Lyon.

MUCK, R.E., GRADY, C.P.L. (1974) Temperature effects on microbial growth in C.S.T.R. *Journal of Environmental Engineering*, **100** : 1147-1164

MULCHANDANI, A., VOLESKY, B. (1986) Modelling of the acetone-butanol fermentation with cell retention. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, **64** : 625-631

MUNACK, A. (1989) *Optimal feeding strategy for identification of Monod-type models by fed-batch experiments* in Computer Applications in Fermentation Technology, modelling and control of Biotechnological Processes, Elsevier éd., London, ISBN 1-85166-397-5

NEIDHARDT, F.C., BLOCH, P.L., SMITH, D.F. (1974) Culture medium for Enterobacteria. *Journal of Bacteriology*, **119** : 736-747

NIHTILA, M., VIRKKUNEN, J. (1977) Practical identifiability of growth and substrate consumption models. *Biotechnology & Bioengineering*, **19** : 1831-1850

NISHIMURA, Y., BAILEY, J.E. (1980) On the dynamics of Cooper-Helmstetter-Donachie procaryote populations. *Mathematical Biosciences*, **51** : 305-328

NOACK, D. (1968) A regulatory model for steady-state conditions in populations of lysogenic bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, **18** : 1-8

NOVAK, B., LASZLO, E. (1986) A limit cycle type oscillation model for the cell cycle regulated by carbon dioxide. *Journal of Theoretical Biology*, **120** : 309-320

NOVICK, A., SZILARD, L. (1950) Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **36** : 708-719

NUNNEY, L. (1981) Interactive competition models and isocline shape. *Mathematical Biosciences*, **56** : 77-110

ONG, S.L. (1983) Least-squares estimation of batch culture kinetic parameters. *Biotechnology & Bioengineering*, **25** : 2347-2358

OWENS, J.D., LEGAN, J.D. (1987) Determination of the Monod substrate saturation constant for microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews*, **46** : 419-432

PAINTER, P.R., MARR, A.G. (1967) Inequality of mean interdivision time and doubling time. *Journal of General Microbiology*, **48** : 155-159

PAINTER, P.R., MARR, A.G. (1968) Mathematics of microbial populations. *Annual Review of Microbiology*, **22** : 519-548

PANIKOV, N., PIRT, S.J. (1978) The effects of cooperativity and growth yield variation on the kinetics of nitrogen or phosphate limited growth of Chlorella in chemostat culture. *Journal of General Microbiology*, **108** : 295-303

PAPANASTASIOU, A.C. (1982) Kinetics of biodegradation of 2,4-Dichlorophenoxy acetate in the presence of glucose. *Biotechnology & Bioengineering*, **24** : 2001-2011

PAPANASTASIOU, A.C., MAIER, W.J. (1983) Dynamics of biodegradation of 2,4-Dichlorophenoxy acetate in the presence of glucose. *Biotechnology & Bioengineering*, **25** : 2337-2346

PARNAS, H., COHEN, D. (1976) The optimal strategy for the metabolism of reserve materials in micro-organisms. *Journal of Theoretical Biology*, **56** : 19-55

PAVE, A. (1980) *Contribution à la théorie et à la pratique des modèles mathématiques pour l'analyse dynamique de systèmes biologiques. Etude de quelques cas typiques en biologie cellulaire et moléculaire*. Thèse de Docteur ès Sciences, Lyon.

PEARL, R., REED, L.J. (1920) On the rate of growth of the population of the united states since 1790 and its mathematical representation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **6** : 275-288

PENNING DE VRIES, F.W.T., BRUNSTING, A.H.M., VAN LAAR, H.H. (1974) Products, requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. *Journal of Theoretical Biology*, **45** : 339-377

PERRAM, J.W. (1973) Relaxation times in bacteriological culture and the approach to steady state. *Journal of Theoretical Biology*, **38** : 571-578

PERRET, C.J. (1960) A new kinetic model of a growing bacterial population. *Journal of General Microbiology*, **22** : 589-617

PETERS, A.C., WIMPENNY, J.W.T., COOMBS, J.P. (1987) Oxygen profiles in, and in the agar beneath, colonies of *Bacillus cereus*, *Staphyloccocus albus* and *Escherichia coli*. *Journal of General Microbiology*, **133** : 1257-1263

PETROVA, T.A., KNORRE, W.A., GUTHKE, R., BERGTER, F. (1977) A mathematical model of microbial growth including an intermediate. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie*, **17** : 531-542

PIRT, S.J. (1965) The maintenance energy of bacteria in growing cultures. *Proceedings of the Royal Society of London*, **163B** : 224-231

PIRT, S.J. (1967) A kinetic study of the mode of growth of surface colonies of bacteria and fungi. *Journal of General Microbiology*, **47** : 181-197

PIRT, S.J. (1973) Estimation of substrate affinities (Ks values) of filamentous fungi from colony growth rates. *Journal of General Microbiology*, **75** : 245-247

POHJANPALO, H. (1978) System identifiability based on the power series expansion of the solution. *Mathematical Biosciences*, **41** : 21-33

PRATT, R. (1940) Influence of the size of the inoculum on the growth of Chlorella vulgaris in freshly prepared culture medium. *American Journal of Botany*, **27** : 52-56

QIWU, C., LAWSON, G.J. (1982) Study on models of single populations: an expansion of the logistic and exponential equations. *Journal of Theoretical Biology*, **98** : 645-659

QIWU, C., LAWSON, G.J., DEEN, G. (1984) Study of models of single populations: development of equations used in microorganism cultures. *Biotechnology & Bioengineering*, **26** : 682-686

RASOOL, K.A., WIMPENNY, J.W.T. (1982) Mixed continuous culture experiments with an antibiotic-producing streptomycete and Escherichia coli. *Microbial Ecology*, **8** : 267-277

RATKOWSKY, D.A., LOWRY, R.K., McMEEKIN, T.A., STOKES, A.N., CHANDLER, R.E. (1983). Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetik range. *Journal of Bacteriology*, **154**, 1222-1226

RENNEBOOG-SQUILBIN, C. (1967) Theory of the chemostat - Study of the conditions under which a population of micro-organisms and its mutant will coexist in the chemostat. *Journal of Theoretical Biology*, **14** : 74-101

RICHARDS, O.W. (1928) The growth of the yeast Saccharomyces cerevisiae. I. The growth curve, its mathematical analysis, and the effect of temperature on the yeast growth. *Annals of Botany*, **42** : 271-283

RIECK, V.T., PALUMBO, S.A., WITTER, L.D. (1973) Glucose availability and the growth rate of colonies of Pseudomonas fluorescens. *Journal of General Microbiology*, **74** : 1-8

ROBINSON, J.A., TIEDJE, M. (1983) Nonlinear estimation of Monod growth kinetic parameters from a single substrate depletion curve. *Applied and Environmental Microbiology*, **45** : 1453-1458

ROBSON, B, GARNIER, J. (1986) *Introduction to proteins and protein engineering*. Elsevier éd., Amsterdam. ISBN 0-444-80681-4

ROCHET, M.J. (1986) *Mutation et croissance bactériennes : étude de quelques souches et leurs mutants résistants à la rifampicine ou à la streptomycine.* Rapport technique de DEA, publication interne du laboratoire de biométrie.

ROCHET, M.J., FLANDROIS, J.P. (1989) Bacterial strain characterization using mathematical modelling of growth. *Zentralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde Infektionskrankenheit und Hygiene*, **271** : 2-10

ROSS, G.G. (1973) A model for the competitive growth of two diatoms. *Journal of Theoretical Biology*, **42** : 307-331

ROTHHAUPT, K.O. (1988) Mechanistic ressource competition theory applied to laboratory experiments with zooplankton. *Nature*, **333** : 660-662

ROUSSEAU, B. (1987) Dynamac : un logiciel interactif pour l'étude des systèmes dynamiques. *Revue Internationale de Systémique*, **1** : 181-207.

ROUSSEAU, B. (1988) *Vers un environnement de résolution de problèmes en biométrie : Apport des techniques de l'intelligence artificielle et de l'interaction graphique*, Thèse de doctorat n° 2083, Lyon

RUBINSTEIN, R.Y. (1981) *Simulation and the Monte Carlo method*. John Wiley & sons éd., New York. ISBN 0-471-08917-6

RUTGERS, M., TEIXERIA DE MATTOS, M.J., POSTMA, P.W., VAN DAM, K. (1987) Establishment of steady state in glucose-limited cultures of Klebsiella pneumoniae. *Journal of General Microbiology*, **133** : 445-451

SAUNDERS, P.T., BAZIN, M.J. (1975) On the stability of food chains. *Journal of Theoretical Biology*, **52** : 121-142

SCHAECHTER, M., MAALØE, O., KJELDGAARD, N.O. (1958) Dependency on medium and temperature of cell size and chemical composition during balanced growth of *Salmonella typhimurium*. *Journal of General Microbiology*, **19** : 592-606

SCHAEFER, W. (1948) Recherches sur la croissance du Mycobacterium tuberculosis en culture homogène. *Annales de l'Institut Pasteur*, **74** : 458-463

SCHOENER, T.W. (1973) Population growth regulated by intra-specific competition for energy or time: some simple representations. *Theoretical Population Biology*, **4** : 56-84

SCHTICKZELLE, M. (1981) Pierre-François Verhulst (1804-1849). La première découverte de la foncion logistique. *Population*, **3** : 541-556

SCHULTZ, J.S., GERHARDT, P. (1969) Dialysis culture of microorganisms: Design, theory, and results. *Bacteriological Reviews*, **33** : 1-47

SCHULZE, K.L., LIPE, R.S. (1964) Relationship between substrate concentration, growth rate and respiration rate of Escherichia coli in continuous culture. *Archives of Microbiology*, **48** : 1-20

SEBER, G.A.F. & WILD, C.J. (1989) *Nonlinear regression*. John Wiley & sons éd., New York, ISBN 0-471-61760-1

SEGEL, L.A. (1984) *Modeling dynamic phenomena in molecular and cellular biology*, Cambridge University Press, ISNB 0-521-27477-X

SENEZ, J. (1962) Some considerations on the energetics of bacterial growth. *Bacteriological Reviews*, **26** : 95-107

SENFT, W.H., HUNCHBERGER, R.A., ROBERTS, K.E. (1981) Temperature dependance of growth and phosphorus uptake in two species of Volvox (Volvocales, Chlorophyta). *Journal of Phycology*, **17** : 323-329

SENN, H.P. (1989) *Kinetik und Regulation des Zuckerabbaus von Escherichia coli ML 30 bei tiefen Zuckerkonzentrationen*, thèse de doctorat ès sciences naturelles n°8831, Zürich

SHAH, P.M., HEETDERKS, G., STILLE, W. (1976) Activity of amikacin at sub-inhibitory levels. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **2** : 97-100

SHALER, T.A., KLECKA, G.M. (1986) Effects of dissolved oxygen concentration on biodegradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Applied and Environmental Microbiology*, **51** : 950-955

SHEHATA, T.E., MARR, A.G. (1971) Effect of nutrient concentration on the growth of Escherichia coli. *Journal of Bacteriology*, **107** : 210-216

SHELEF, G., OSWALD, W.J., GOLUEKE, C.C. (1970) Assaying algal growth with respect to nitrate concentration by a continuous flow turbidostat. *Proceedings of the International Conference on Water Pollution Research*, **3** : 1-25

SHOCKMAN, G.D., CONOVER, M.J., KOLB, J.J., PHILLIPS, P.M., RILEY, L.S., TOENNIES, G. (1988) Lysis of Streptococcus faecalis. *Journal of Bacteriology*, **81** : 36-43

SIMKINS, S., ALEXANDER, M. (1985) Nonlinear estimation of the parameters of Monod kinetics that best describe mineralization of several substrate concentrations by dissimilar bacterial densities. *Applied and Environmental Microbiology*, **50** : 816-824

SINCLAIR, N.A., STOKES, J.L. (1962) Factors which control maximal growth of bacteria. *Journal of Bacteriology*, **83** : 1147-1154

SLEE, A.M., TANZER, J.M. (1980) Effect of growth conditions on sucrose phosphotransferase activity of Streptococcus mutans. *Infection and Immunity*, **27** : 922-927

SMITH, H.L. (1981) Competitive coexistence in an oscillating chemostat. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, **40** : 498-522

SMOUSE, P.E. (1980) Mathematical models for continuous culture growth dynamics of mixed populations subsisting on a heterogeneous ressource base: 1. Simple competition. *Theoretical Population Biology*, **17** : 16-36

SMOUSE, P.E. (1981) Mathematical models for continuous culture growth dynamics of mixed populations subsisting on a heterogeneous ressource base: 2. Predation and trophic stucture. *Theoretical Population Biology*, **20** : 127-149

SOMMER, U. (1986) Nitrate- and silicate- competition among antartic phytoplankton. *Marine Biology*, **91** : 345-351

SPAUN, J. (1962) Problems in standardization of turbidity determinations of bacterial suspensions. *Bulletin of the World Health Organisation*, **26** : 219-255

SPICER, C.C. (1955) The theory of bacterial constant growth apparatus. *Biometrics*, **11** : 225-230

p, R.Y. (1977) Obituary, Jacques Monod, 1910-1976. *Journal of General Microbiology*, **101** : 1-12

STANIER, R.Y., INGRAHAM, J.L., WHEELIS, M.L., PAINTER, P.R. (1986) *The microbial world*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J., USA, ISBN 0-13-581042-6

STEPHANOPOULOS, G., ARIS, R., FREDRICKSON, A.G. (1979) A stochastic analysis of the growth of competing microbial populations in a continuous biochemical reactor. *Mathematical Biosciences*, **45** : 99-135

STEPHANOPOULOS, G., FREDRICKSON, A.G. (1981) Extinction probabilities in microbial predation. A birth and death approach. *Bulletin of Mathematical Biology*, **43** : 165-182

STEWART, F.M., LEVIN, B.R. (1984) The population biology of bacterial viruses: Why be temperate? *Theoretical Population Biology*, **26** : 93-117

STIEBITZ, O., WOLF, K.H., KLOEDEN, W. (1987) Auswirkungen der Methode der Linearisierung des mu-Cs-Verlaufs auf die Parameteranpassung bei dem Monodschen Modell. *Acta Biotechnologica*, **7** : 167-172

STOUTHAMER, A.H., BETTENHAUSSEN, C. (1973) Utilization of energy for growth and maintenance in continuous and batch culture of microorganisms. *Biochimica Biophysica Acta*, **301** : 53-70

SWANSON, C.H., FREDRICKSON, A.G., TSUCHIYA, H.M. (1966) Bacterial growth as an optimal process. *Journal of Theoretical Biology*, **12** : 228-250

SZEDLACSEK, S.T. (1982) A model of bacterial cell growth. *Revue Roumaine de Biochimie*, **19** : 151-159

TANNER, R.D. (1970) An enzyme kinetic model for describing fermentation processes. *Biotechnology & Bioengineering*, **12** : 831-843

TEISSIER, G. (1936) Les lois quantitatives de la croissance. *Annales de Physiologie et de Physicochimie Biologique*, **12** : 527-573

TEMPEST, D.W., NEIJSSEL, O.M. (1984) The status of Y_{ATP} and maintenance energy as biologically interpretable phenomena. *Annual Review of Microbiology*, **38** : 459-486

TEMPEST, D.W., NEIJSSEL, O.M. (1987) Growth yield and energy distribution. pp 797-806 *in Escherichia coli and Salmonella typhimurium, cellular and molecular biology*, F.C. Neidhardt éd., Library of Congress, Washington, ISBN 0-914826-89-1

THOMAS, W.H. (1970) Effect of ammonium and nitrate concentration on chlorophyll increases in natural tropical pacific phytoplankton populations. *Limnology Oceanography*, **15** : 386-394

THOMPSON, L.W. (1983) Acquisitive evolution of ribitol dehydrogenase in Klebsiella pneumoniae. *Journal of Bacteriology*, **154** : 1027-1031

TILMAN, D., KILHAM, S.S. (1976) Phosphate and silicate growth and uptake kinetics of the diatoms Asterionella formosa and Cyclotella meneghiniana in batch and semicontinuous culture. *Journal of Phycology*, **12** : 375-383

TILMAN, D., KILHAM, S.S., KILHAM, P. (1982) Phytoplankton community ecology: the role of limiting nutrients. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **13** : 349-372

TOENNIES, G., GALLANT, D.L. (1949) The relation between photometric turbidity and bacterial concentration. *Growth*, **13** : 7-20

TOPIWALA, H.H., SINCLAIR, C.G. (1971) Temperature relationship in continuous culture. *Biotechnology & Bioengineering*, **13** : 795-813

TRAORE, A.S., GAUDIN, C., HATCHIKIAN, C.E., LE GALL, J., BELAICH, J.P. (1983) Energetics of growth of a defined mixed culture of Desulfovibrio vulgaris and Methanosarcina barkeri: maintenance energy coefficient of the sulfate-reducing organism in the absence and presence of its partner. *Journal of Bacteriology*, **155** : 1260-1264

TSAO, G.T., HANSON, T.P. (1975) Extended Monod equation for batch cultures with multiple exponential phases. *Biotechnology & Bioengineering*, **17** : 1591-1598

TSENG, M.M.C., WAYMAN, M. (1975) Kinetics of yeast growth: inhibition-threshold substrate concentrations. *Canadian Journal of Microbiology*, **21** : 994-1003

TSUCHIYA, H.M., DRAKE, J.F., JOST, J.L., FREDRICKSON, A.G. (1972) Predator-prey interactions of *Dictyostelium discoideum* and *Escherichia coli* in continuous culture. *Journal of Bacteriology*, **110** : 1147-1153

ULLMANN, U. (1971) Ein Verfahren zur kontinuierlichen Registrierung der optischen Dichte sich vermehrender Bakterienkulturen und seine Anwendungsmöglichkeiten. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene Abteilung Series A - Medical Microbiology Infectious Diseases Virology Parasitology*, **218** : 356-364.

VAN DER HOEVEN, N. (1984) A mathematical model for the co-existence of incompatible, conjugative plasmids in individual bacteria of a bacterial population. *Journal of Theoretical Biology*, **110** : 411-423

VAN GINKEL, C.G., HABETS-CRUTZEN, A.Q.H.,VAN DER LAST, A.R.M., DE BONT, J.A.M. (1987) A description of microbial growth on gaseous alkenes in a chemostat culture. *Biotechnology & Bioengineering*, **30** : 799-804

VAN UDEN, N. (1969) Kinetics of nutrient-limited growth. *Annual Review of Microbiology*, **23** : 473-486

VAN UDEN, N. (1984) Temperature profiles of yeast. *Advances in Microbial Physiology*, **25** : 195-251

VAVILIN, V.A., VASILIEV, V.B. (1980) Nonlinear models of biological treatment processes. *Ecological Modelling*, **9** : 57-71

VERHOFF, F.H., SUNDARESAN, K.R., TENNEY, M.W. (1972) A mechanism of microbial cell growth. *Biotechnology & Bioengineering*, **14** : 411-436

VERHULST, P.F. (1845) Recherches mathématiques sur la loi d'accroissement de la population. *Mémoires de l'académie royale des sciences, des lettres et des beaux-arts de Belgique*, **18** : 1-38

VERHULST, P.F. (1847) Deuxième mémoire sur la loi d'accroissement de la population. *Mémoires de l'académie royale des sciences, des lettres et des beaux-arts de Belgique*, **20** : 1-32

VIALAS, C., CHERUY, A., GENTIL, S. (1985) An experimental approach to improve the Monod model identification. 1st IFAC Symp. on modelling and control of biotechnological processes, 155-160.

VILLARREAL, E., AKCASU, Z., CANALE, R.P. (1976) A theory of interacting microbial populations: multigroup approach. *Journal of Theoretical Biology*, **58** : 285-317

VOLCKMANN, J. (1988) *Analyse automatisée de la croissance bactérienne : application au contrôle de qualité des peptones*. Diplôme de pharmacie, Lyon.

VON MEYENBURG, K. (1971) Transport-limited growth rates in a mutant of Escherichia coli. *Journal of Bacteriology*, **107** : 878-888

WAGNER, K., HEMPEL, D.C. (1988) Biodegradation by immobilized bacteria in an airlift-loop reactor - influence of biofilm diffusion limitation. *Biotechnology & Bioengineering*, **31** : 559-566

WALLACE, R.J., HOLMS, W.H. (1986) Maintenance coefficients and rates of turnover of cell material in Escherichia coli ML308 at different growth temperatures. *FEMS Microbiology Letters*, **37** : 317-320

WALTER, E. (1982) Identifiability of state space models. *Lectures Notes in Biomathematics*, **46** : 1-202

WANG, C.H., KOCH, A.L. (1978) Constancy of growth on simple and complex media. *Journal of Bacteriology*, **136** : 969-975

WANNER, U., .EGLI, T. (1990) Dynamics of microbial growth and cell composition in batch culture. *FEMS Microbiology Reviews*, **75** : 19-44

WASE, D.A.J., HOUGH, J.S. (1966) Continuous culture of yeast on phenol. *Journal of General Microbiology*, **42** : 13-23

WEBSTER, I.A. (1981) Hyperbolic kinetics may be a result of a common metabolic signal. *Biotechnology & Bioengineering*, **23** : 1409-1411

WILLIAMS, F.M. (1967) A model of cell growth dynamics. *Journal of Theoretical Biology*, **15** : 190-207

WILLIAMS, T.G., TURPIN, D.H. (1987) Photosynthetic kinetics determine the outcome of competition for dissolved inorganic carbon by freshwater microalgae: implication for acidified lakes. *Œcologia*, **73** : 307-311

WÖRZ-BUSEKROS, A., LANGE, P. (1983) Dynamics of a continuous culture with catalysis of the growth-limiting substrate by an enzyme of the cells. *Bulletin of Mathematical Biology*, **45** : 981-990

WYATT, H.V. (1964) Cations, enzymes and the control of cell metabolism. *Journal of Theoretical Biology*, **6** : 441-470

YAMANO, H., TAKAHASHI, K. (1986) Computer analysis of kinetic data for microbial growth thermograms observed with a batch calorimeter. *Agricultural and Biological Chemistry*, **50** : 3157-3164

YERUSHALMI, L., VOLESKY, B., VOTRUBA, J. (1986) Modelling of culture kinetics and physiology for C. acetobutylicum. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, **64** : 607-616

YOURASSOWSKY, E., VAN DER LINDEN, M.P., LISMONT, M.L., CROKAERT, F. (1981). Growth curves of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* submitted to different ceftazidine concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **8B** : 127-130

YOURASSOWSKY, E., VAN DER LINDEN, M.P., LISMONT, M.L., CROKAERT, F., GLUPCZYNSKI, Y. (1985) Effect on growth curve patterns of brief exposure of bacteria to different concentrations of β-lactam antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **15A** : 27-36

ZWIETERING, M.H., JONGENBURGER, I., ROMBOUTS, F.M., VAN'T RIET, K. (1990) Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, **56** : 1875-1881