

Analyse biologique d'une eau courante + Préparation de GÉLOSE nutritive

L'intérêt de cet exercice, réalisable - au moins en partie - par les élèves de 2^e, 3^e ou de 5^e, est de permettre de montrer des techniques courantes et classiques de microbiologie ayant une portée pratique: l'analyse d'une eau pour voir sa pureté bactériologique.

Il s'agit en effet de cultiver sur un milieu artificiel les germes présents dans une eau afin de les mettre en évidence et d'en faire le compte.

MATÉRIEL

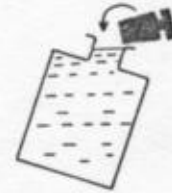
- Flacon à fermeture émeri;
- Pipette graduée à 1 ml;
- Boîtes de Pétri;
- Bec Bunsen;
- Etuve (facultatif);
- Autoclave, ou « cocotte-minute »;
- Pipettes Pasteur(*), réalisables au laboratoire;
- Ensemenceurs coudés(*), réalisables au laboratoire;
- Anses(*);
- Gélose nutritive, ou
- Milieu tout prêt du commerce(*)

(*) Matériel se trouvant dans le « kit » du Bio-service I.P.L. (Institut Pasteur de Lille).

RÉALISATION

1. Prélèvement

On prélève de l'eau (rivière, mare, etc.) dans un flacon à fermeture émeri, en le tenant penché et bien rempli afin de ne pas laisser de bulles d'air. Le transport de l'eau au laboratoire se fait dans une glacière afin de stopper momentanément le développement des micro-organismes.



2. Préparation du milieu de culture

On utilise de la gélose nutritive qu'on met en boîte de Pétri. A défaut de gélose, on peut prendre un milieu tout prêt du commerce qu'on trouve chez Jeulin, Biolab, etc., ou dans le « Kit » Bio-Service I.P.L.

On stérilise les milieux de culture à 120 °C pendant 20 minutes à l'autoclave ou à la « cocotte-minute ».

Gélose nutritive

- peptone	6 g
- extrait de levure	3 g
- agar	15 g
- eau	1 000 ml

3. Ensemencement et culture

On introduit (avec une pipette Pasteur) 0,1 ml d'eau à analyser dans chaque boîte de Pétri.

On ensemence soit par étalement (avec un ensemenceur coudé), soit par stries (avec une anse), en manipulant toujours près de la flamme d'un bec Bunsen.

Pour certaines eaux très riches en micro-organismes, on conseille de diluer dans de l'eau physiologique salée à 9 g/litre ou de l'eau distillée, à 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , etc. (Exemple : dilution à 10^{-1} = dilution au 1/10, soit 1 ml pour 9 ml de diluant; de même : dilution à 10^{-2} , 1 ml pour 99 ml de diluant, etc.).

On maintient les cultures à 37 °C pendant 24 heures, ou à 22 °C pendant 72 heures.

TECHNIQUES ET ENSEIGNEMENT

T.E.1

Analyse biologique d'une eau courante

UTILISATION

1. Observation des préparations

On peut observer immédiatement après leur passage à l'étuve. On peut aussi les conserver au réfrigérateur jusqu'au jour de la séance de T.P.

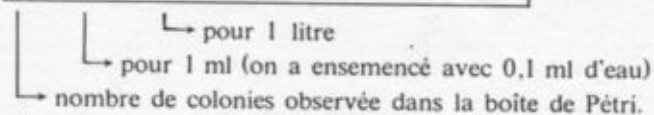
Faire observer à l'œil nu et à la loupe à main et noter :

- la taille des colonies;
- l'aspect de leur surface (lisse, brillante, rugueuse, mate, etc);
- l'allure des contours (simple ou dentés ou déchiquetés, etc);
- la coloration.

2. Comptage

Faire dénombrer les germes présents dans l'échantillon d'eau, à partir du nombre de colonies observées dans la boîte, selon la formule :

$$n \times 10 \times 1\,000 = y \text{ germes par litre d'eau}$$



N.B. : Si on a dilué à 10^{-d} , le calcul sera : $n \times 10 \times 10^{-d} \times 1\,000 = y$ germes/litres.

BIBLIOGRAPHIE

En microbiologie, l'ouvrage suivant peut rendre de grands services aux collègues enseignant en 3^e.

MARCHAL N., 1976. - *Initiation à la microbiologie*, Technique et Vulgarisation éd., Paris.

Fiche réalisée par J.C. MOREL, d'après une étude d'analyse biologique que Myriam GOUTTE (département de Biologie animale et Ecologie, Université Lyon-I) propose dans une publication du Parc Naturel Régional du Pilat intitulée : *Ecologie des eaux courantes : méthode d'étude*.