

TP. N°02: EFFET DU pH SUR LA CROISSANCE BACTERIENNE

Introduction

Un certain nombre des facteurs physico-chimiques externes peuvent intervenir dans le développement des microorganismes. La variation de certains entre eux (pH du milieu, la température, oxygène, eau, pression osmotique, antiseptiques, antibiotiques, hormones, vitamines, ...) peut accélérer, retarder, ou arrêter la croissance microbienne. Nous étudions dans cette séance l'influence de la variation du pH (concentration en ion hydrogène [H⁺]) sur la croissance bactérienne.

Le pH est un paramètre qui mesure l'acidité ou l'alcalinité d'un milieu, sa valeur varie de 0 à 14 et la valeur 7 correspond à un pH neutre. Chaque espèce se développe dans une certaine gamme de pH et à un pH optimal pour sa croissance. Au fait, toutes les bactéries ont un pH minimum et maximum de développement. Une façon d'arrêter leur développement est de l'élever ou de l'abaisser. En fonction de la valeur optimale du pH, on distingue les bactéries:

- **Neutrophiles**: se développent pour des pH compris entre 5,5 et 8,5 avec un optimum voisin de 7 ;
- **Alcalophiles**: préfèrent les pH alcalins ;
- **Acidophiles**: se multiplient mieux dans des milieux acides.

1. But d'expérience

- Apprécier les valeurs du pH limitant la croissance d'*Escherichia coli* ;
- Déterminer la valeur optimale du pH pour une croissance idéale d'*Escherichia coli*.

2. Matériel par groupe

- Boîtes Pétriensemencées par *Escherichia coli* ;
- Anse de platine ;
- 03 tubs à vis contenant entre 10ml de Bouillon Nutritif (BN) stérile à trois pH différents : pH acide (2 - 4), pH basique (10 - 12) et pH neutre (6.5 - 7.5);
- Eau de Javel ;
- Bec Bunsen ;
- Etuves à 37°C.

3. Mode opératoire

- Marquer chaque tube avec le pH correspondant: 3, 7 et 10 ;
- Ensemencer les trois tubes avec la souche bactérienne à étudier ;
- Incuber immédiatement les trois tubes à une température de 37°C ;
- Lire les résultats après la durée d'incubation : 24h, 48h et 72h.

4. Lecture des résultats

Pour lire les résultats, il est préférable de déterminer la densité optique des tubes avec un turbidimètre. S' il n'y a pas de spectrophotomètre, une lecture visuelle est effectuée comme suit :

- (-): absence de pousse ;
- (+): légère croissance ;
- (++): développement assez important ;
- (+++): développement maximale

5. Compte rendu

1. Dessiner un tableau représentant les résultats obtenus;
2. Comparer les résultats obtenus en fonction des pHs utilisés;
3. Estimer le pH optimum de la croissance d'*E. coli* et dans quelle classe elle fait partie?;
4. Dans le but de tracer la courbe de croissance d'*E. coli* en chaque pH, qu'est-ce que vous avez besoin ?;
5. Comment le pH influe négativement sur le métabolisme des microorganismes ;
6. Selon le pH optimum, définir les trois groupes bactériens ;
7. Comment le pH du milieu de culture serait-il influencé par la fermentation du sucre ? et par l'hydrolyse de l'urée ?