

## MODULE 4 : MICROBIOLOGIE ET GENIE FERMENTAIRE

### LES COMPETENCES EVALUABLES

<b>C1-1</b>	Préparer les réactifs et les solutions de travail
1-1-1	Préparer et conditionner solutions de travail et réactifs,
1-1-2	Préparer des milieux de culture
<b>C1-2</b>	Préparer ou prétraiter les échantillons biologiques
1-2-1	Préparer les échantillons biologiques,
1-2-2	Prétraiter les échantillons biologiques,
1-2-3	Conditionner le matériel biologique
<b>C1-4</b>	Mettre en œuvre des techniques en microbiologie
1-4-1	Mettre en œuvre un examen microscopique
1-4-2	Cultiver des agents biologiques
1-4-3	Identifier par méthodes biochimiques, immunologiques, moléculaires
1-4-4	Mettre en œuvre un typage de souche
1-4-5	Dénombrer des agents biologiques
1-4-6	Conservier et stocker les agents biologiques
<b>C1-5</b>	Mettre en œuvre des techniques utilisant des anticorps
<b>C1-7</b>	Mettre en œuvre des techniques en génie fermentaire
1-7-1	Préparer et organiser une unité de fermentation (2 à 10 L)
1-7-2	Préparer et stériliser les différents réactifs, solutions et matériels
1-7-3	Réaliser la préculture et ensemercer le milieu de fermentation
1-7-4	Conduire la fermentation
1-7-5	Traiter des données cinétiques
1-7-6	Effectuer le traitement primaire du moût en fin de fermentation : séparation de la biomasse
1-7-7	Conservier et stocker le matériel collecté
1-7-8	Assurer l'élimination des cultures et consommables Décontaminer et nettoyer l'unité de fermentation et les périphériques
<b>C2-1</b>	Organiser son activité de travail
<b>C2-4</b>	Gérer la santé et la sécurité au travail
<b>C3-1</b>	Analyser et exploiter des données ou des résultats
<b>C4-3</b>	Rendre compte et transmettre l'information

### PROGRAMME

<b>Section 1</b>	Organisations structurales et fonctionnelles des microorganismes eucaryotes et procaryotes
<b>Section 2</b>	Systématique
<b>Section 3</b>	Diversité des métabolismes et des conditions environnementales
<b>Section 4</b>	Génétique microbienne
<b>Section 5</b>	Virologie
<b>Section 6</b>	Organisation du laboratoire
<b>Section 7</b>	Techniques de base de microbiologie
<b>Section 8</b>	Microbiologie industrielle et génie fermentaire

**PREPARATION DE MILIEUX ET DE REACTIFS**

**C1-1-1 : Préparer et conditionner solutions de travail et réactifs,  
C1-1-2 : Préparer des milieux de culture**

Choix du volume à préparer (en fonction des besoins)	
Mesure du volume avec matériel approprié (éprouvette, pipette...)	
Calcul de(s) la(les) masse(s) à peser (poudre de milieu ou poudre de « composant »)	
Utilisation correcte de la balance (tarage avec le récipient + mesure correcte)	
Utilisation d'un matériel adapté pour la préparation (bêcher, casserole ...)	
Respect du protocole de préparation (chauffage ou non, homogénéisation...)	
Respect des procédures de sécurité	
Conditionnement adapté (contenant (flacon, tube...) et transvasement (direct avec entonnoir ou indirect avec pipette, distributeur automatique))	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
Choix correct du procédé de stérilisation (autoclavage, filtration stérilisante ...)	
Etiquetage conforme des préparations réalisées	

**PREPARATION DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES**

**C1-2-1 : Préparer les échantillons biologiques,  
C1-2-2 : Prétraiter les échantillons biologiques,  
C1-2-3 : Conditionner le matériel biologique**

<b>Préparation d'une suspension bactérienne à partir d'une culture sur milieu gélosé</b>	
<b>Exécution correcte de la technique</b>	
Choix du diluant, du volume de préparation	
Prélèvement à l'anse de colonies isolées ou d'une culture pure	
Dissociation progressive dans le diluant	
Homogénéisation	
<b>Utilisation correcte de la suspension</b> : à l'anse et/ou à la pipette Pasteur (fermée ou ouverte)	
<b>Respect des procédures de sécurité</b>	
Stérilisation de l'anse par le coté interne	
Elimination correcte de la suspension (sac à autoclave des tubes à hémolyse ou panier à autoclave pour tube à essai)	
<b>Qualité conforme de la suspension</b> : Trouble adapté à la suite de la manipulation...	

**EXAMEN MICROSCOPIQUE DE MICROORGANISME (C1-4-1)**

<b>Pour l'état frais de bactérie ou de levures</b>	
<b>Exécution correcte de la technique</b>	
Utilisation de l'öese	
Pas de débordement de suspension hors de la lamelle	
<b>Utilisation correcte et adéquate du matériel : Réglage du microscope</b>	
Objectif 40, Intensité « maximale », condenseur bas, diaphragme fermé	
Mise au point correcte sur des microorganismes	
<b>Qualité de la préparation (densité)</b>	
<b>Présentation des résultats et conclusions</b>	
Choix judicieux du champ montré	
Présentation simultanée de l'observation et de sa description	
Description conforme à l'observation	
Choix des critères de la description : Forme, mode de groupement, taille approximative, bourgeonnement, présence ou l'absence de pseudomycélium, présence ou absence de mobilité, si présence description de la mobilité, densité des différentes populations microbiennes ...	
Si schéma : légendes + grossissement si à l'échelle de l'observation ou échelle si l'échelle de l'observation n'est pas respectée.	
Supposition sur le type de ciliature si mobilité	
Conclusion sur le compte rendu	
<b>Élimination de la lame dans le bac à Javel (3°cl)</b>	
<b>Rangement du microscope</b> (diminution de l'intensité lumineuse avant d'éteindre + protection + débrancher)	
<b>Pour un frottis coloré au Gram</b>	
<b>Exécution correcte de la technique</b>	
Réalisation du frottis à l'öese	
Séchage du frottis éventuellement au dessus de la flamme ou de la veilleuse mais sans chauffer la lame (absence d'aérosols)	
Fixation à l'alcool à froid 3 minutes	
Coloration de Gram	
Séchage parfait de la lame	
<b>Utilisation correcte et adéquate du matériel : Réglage du microscope</b>	
Objectif 100 +une petite goutte d'huile à immersion, Intensité maximale, condenseur haut, diaphragme ouvert	
Mise au point correcte sur des microorganismes	
<b>Qualité de la préparation</b>	
Couleur attendue pour les bactéries	
Contraste et intensité de la coloration	
Bonne densité de microorganismes	

<b>Présentation correcte des résultats et conclusion</b>	
Choix judicieux du champ montré	
Présentation simultanée de l'observation et de sa description	
Description conforme à l'observation	
Choix des critères de la description : Forme avec description, taille approximative, coloration, mode de groupement, densité des différentes populations microbiennes...	
Si schéma : légendes + grossissement si à l'échelle de l'observation ou échelle si l'échelle de l'observation n'est pas respectée.	
Conclusion sur le compte rendu	
<b>Élimination de la lame dans le Bac à Javel (3°cl)</b>	
<b>Rangement du microscope</b> (Essuyage de l'objectif 100 avec un papier Joseph + diminution de l'intensité lumineuse avant d'éteindre + protection+ débrancher)	
<b><u>Pour l'observation de moisissures</u></b>	
<b>Exécution correcte de la technique du drapeau</b>	
Manipulation des rubans adhésifs avec des pinces	
Pas de débordement de suspension hors de la lamelle	
Respect des consignes de sécurité	
<b>Utilisation correcte et adéquate du matériel : Réglage du microscope</b>	
Objectif 10 puis 40, Intensité « maximale », condenseur bas, diaphragme fermé	
Mise au point correcte sur les moisissures	
<b>Qualité de la préparation</b> (appareil fructifère intact ...)	
<b>Présentation correcte des résultats et conclusions</b>	
Choix judicieux du champ montré (sur appareil fructifère)	
Présentation simultanée de l'observation et de sa description	
Description conforme à l'observation	
Choix des critères de la description : Description du thalle ou mycélium : cloisonnement, ramification, pigmentation. Description de l'appareil fructifère : conidiophore et spores	
Si schéma : légendes + grossissement si à l'échelle de l'observation ou échelle si l'échelle de l'observation n'est pas respectée.	
Conclusion sur le compte rendu	
<b>Élimination de la lame dans le bac à Javel (3°cl)</b>	
<b>Rangement du microscope</b> (diminution de l'intensité lumineuse avant d'éteindre + protection + débrancher)	

**MISE EN CULTURE D'AGENTS BIOLOGIQUES (C1-4-2)**

Choix pertinent des milieux	
Justification de sa composition (si spécifiée)	
Choix adapté de la méthode d'ensemencement	
Choix adapté du matériel d'ensemencement	
Organisation spatio-temporelle du travail rationnelle	
Choix correct des conditions d'incubation	
Etiquetage conforme des préparations réalisées	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
Exécution correcte des ensemencements	
Qualité conforme des milieux préparés et des analyses réalisées (résultats conformes aux résultats attendus)	
Absence de contamination	
Relevé pertinent des indicateurs de suivi de culture (sur le compte-rendu)	
Conclusion sur le compte-rendu	
Respect des procédures de sécurité	
Elimination conforme des cultures et /ou du matériel utilisé	
<b>Exemple : Isolement d'une suspension bactérienne, ayant servie à l'ensemencement d'une galerie d'identification, pour vérifier sa pureté</b>	
Choix pertinent des milieux : milieu gélosé non sélectif en boîte de Pétri (ou 3 tubes gélosés non sélectifs en pente)	
Justification de sa composition : non sélectif pour déceler la présence éventuelle de contaminants	
Choix adapté de la méthode d'ensemencement : Isolement par technique adaptée (quadrants, épaissements ...)	
Choix adapté du matériel d'ensemencement : pipette Pasteur fermée ou anse « égouttée »	
Organisation spatio-temporelle du travail rationnelle : après ensemencement de la galerie d'identification	
Choix correct des conditions d'incubation : reprendre les conditions d'incubation de la galerie d'identification (température, condition atmosphérique et temps)	
Etiquetage conforme des préparations réalisées : identification sur le socle de la boîte de Pétri ou en haut des tubes (à numéroter 1, 2, 3) : n°souche, nom de l'étudiant ou du poste de travail, « date ».	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
Exécution correcte des ensemencements : au moins 5 colonies isolées après incubation	
Qualité conforme des milieux préparés et des analyses réalisées : un seul type de colonies correspondant à la souche à identifier	
Absence de contamination	
Relevé pertinent des indicateurs de suivi de culture : analyse macroscopique des colonies	
Conclusion sur le compte-rendu : Un seul type de colonies donc pureté de la suspension vérifiée et galerie interprétable	
Respect des procédures de sécurité	
Elimination conforme des cultures et /ou du matériel utilisé : sac à autoclave pour matériel non recyclé si boîte de Pétri et paniers métalliques pour autoclave si tubes à essai.	

**IDENTIFICATION PAR MÉTHODES BIOCHIMIQUES (C1-4-3)**

<b>POUR L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE DES BACTÉRIES</b>	
Organisation spatio-temporelle du travail rationnelle	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
Respect des procédures de sécurité	
<b>Test d'orientation</b>	
Choix justifié des réactifs : réactif oxydase ou peroxyde d'hydrogène	
Exécution correcte du test	
Résultat conforme au résultat attendu	
Analyse critique du résultat sur le compte-rendu	
<u>Conclusion sur le compte-rendu :</u>	
⇒ orientation voire identification (par dichotomie)	
⇒ choix de la galerie (macrogalerie ou microgalerie + Gélose nutritive)	
<b>Galerie d'identification</b>	
Intérêt des milieux (gélose nutritive...)	
Choix du matériel (tube d'eau stérile ...)	
Réalisation éventuelle de tests complémentaires	
Respect du protocole (qualité du trouble des suspensions, vaseline ...)	
Exécution correcte des ensemencements	
Exécution correcte des tests complémentaires	
Choix correct des conditions d'incubation (température, conditions atmosphérique et temps)	
Étiquetage conforme des préparations réalisées	
Respect des protocoles de caractérisation biochimique	
Qualité conforme des milieux préparés et des analyses réalisées (résultats conformes aux résultats attendus)	
Absence de contamination	
Analyse critique des résultats sur le compte-rendu	
<b>Identification</b>	
Validation de la pureté de la suspension	
<u>Orientation et/ ou identification par raisonnement dichotomique justifié :</u>	
Notation de la base de données utilisée	
Utilisation hiérarchique de caractères discriminatifs (raisonnement dichotomique)	
Validation des caractères non utilisés dans le raisonnement	
<u>Identification par méthode probabiliste :</u>	
Utilisation correcte du logiciel d'identification	
Nom de la souche la plus probable avec le % de probabilité	
Qualification de l'identification : bonne, très bonne ...	
<b>Elimination</b> correcte des cultures et /ou du matériel utilisé	

<b>POUR L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE DES LEVURES</b>	
Organisation spatio-temporelle du travail rationnelle	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
<b>Galerie d'identification</b>	
Intérêt des milieux (gélose nutritive...)	
Choix du matériel (tube d'eau stérile ...)	
Réalisation éventuelle de tests complémentaires	
Respect du protocole (qualité du trouble des suspensions, vaseline ...)	
Exécution correcte des ensemencements	
Exécution correcte des tests complémentaires	
Choix correct des conditions d'incubation (température, conditions atmosphérique et temps)	
Etiquetage conforme des préparations réalisées	
Respect des protocoles de caractérisation biochimique	
Qualité conforme des milieux préparés et des analyses réalisées (résultats conformes aux résultats attendus)	
Absence de contamination	
Analyse critique des résultats sur le compte-rendu	
<b>Identification</b>	
Validation de la pureté de la suspension	
<u>Orientation et/ ou identification par raisonnement dichotomique justifié :</u>	
Notation de la base de données utilisée	
Utilisation hiérarchique de caractères discriminatifs (raisonnement dichotomique)	
Validation des caractères non utilisés dans le raisonnement	
<u>Identification par méthode probabiliste :</u>	
Utilisation correcte du logiciel d'identification	
Nom de la souche la plus probable avec le % de probabilité	
Qualification de l'identification : bonne, très bonne ...	
<b>Elimination</b> correcte des cultures et /ou du matériel utilisé	

**IDENTIFICATION PAR MÉTHODE IMMUNOLOGIQUES  
(C1-4-3, C1-4-4, C1-5)**

<b>Choisir un protocole adapté</b>	
Choix pertinent et justifié du protocole	
Organisation fonctionnelle et pratique du plan de travail	
Respect de la chronologie et de la durée des étapes en minimisant les pertes de temps.	
<b>Prévoir des témoins et des échantillons de référence</b>	
Choix pertinent et justifié du ou des témoins	
<b>Appliquer sur les témoins et les échantillons le protocole choisi</b>	
Étiquetage conforme des préparations réalisées	
Réalisation correcte des gestes techniques adaptés	
Homogénéisation des réactifs	
Réalisation d'une suspension homogène entre antigènes et anticorps	
Agitation par rotation de la lame ou plaque ou .....	
Analyse des résultats	
Observation	
Interprétation	
Conclusion	
Choix et justification de l'étape suivante du protocole si nécessaire	
Respect de la chronologie et de la logique des étapes	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
Résultats conformes aux résultats attendus	
Respect des procédures de sécurité	
Élimination conforme des lames, plaques et matériel contaminé.	

**ÉVALUATION DE LA CONCENTRATION CELLULAIRE MICROBIENNE  
(C1-4-5)**

<b>COMPTAGE HEMATIMÉTRIQUE</b>	
<b>Technique</b>	
Collage correct de la lamelle hématimétrique	
Exécution correcte de la mise en hématimètre	
Utilisation correcte du microscope	
Mise au point à l'objectif x 10	
Vérification d'une répartition homogène des cellules	
Mise au point à l'objectif x 40	
Exécution correcte d'une éventuelle dilution	
Comptage correct des cellules	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
Respect des procédures de sécurité	
Elimination conforme des cultures et du matériel contaminé	
Nettoyage conforme de l'hématimètre	
Rangement correct du microscope	
Qualité conforme de l'analyse (résultat conforme à celui attendu)	
<b>Présentation et analyse des résultats</b>	
Présentation du comptage sous forme d'un tableau (repérage facile de la quantité de cellules, du volume de comptage et de l'éventuelle dilution)	
Calcul de la concentration cellulaire : Formule littérale / Application numérique / unités	
Analyse critique du résultat	
<b>DÉNOMBREMENT EN MILIEU SOLIDE</b>	
<b>Technique</b>	
Organisation spatio-temporelle du travail rationnelle	
Choix pertinent des milieux, réactifs, matériels et méthodes (par exemple choix des dilutions à ensemercer)	
Exécution correcte de(s) dilution(s) : changement d'instrument entre chaque dilution si en série, volume de diluant correct, utilisation pipette correcte ...	
Exécution correcte des ensemencement (étalement, quantité de colonies d'une dilution à l'autre ou pour une même dilution ....) et incubation	
Absence de contamination	
Etiquetage conforme des préparations réalisées	
Qualité conforme des milieux préparés et des analyses réalisées	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
Respect des procédures de sécurité	
Elimination conforme des cultures et du matériel contaminé	
<b>Présentation et analyse des résultats</b>	
Choix des dilutions (Formule littérale et application numérique)	
Présentation du dénombrement dans un tableau (quantité de colonies en fonction des dilutions)	
Calcul de la concentration cellulaire :	
Formule littérale	
Application numérique	
unités	
Analyse critique du résultat	

## ÉVALUATION DE LA BIOMASSE MICROBIENNE (C1-4-5)

<b>Mesure d'une absorbance</b>	
Réglage de la longueur d'onde $\lambda$ sur le spectrophotomètre (ou vérification)	
Réalisation d'un blanc adapté	
Réglage du zéro de l'appareil de mesure	
Fermeture hermétique des cuves avec du parafilm	
Homogénéisation par retournement avant la mesure	
Positionnement correct de la cuve dans l'appareil de mesure	
Dilution si Absorbance mesurée supérieure à l'Absorbance limite (0,7)	
- Choix correct de la dilution à effectuer ( $0,1 < A_{\text{mesurée}}(\text{diluée}) < 0,7$ )	
- Réalisation correcte de la dilution (dans la cuve + diluant adapté + volumes corrects)	
- Sur le compte-rendu : calcul de l'absorbance réelle en fonction de la dilution réalisée $A_{\text{réelle}} = A_{\text{mesurée}}(\text{diluée}) \times \text{facteur de dilution}$	
Qualité conforme de l'absorbance	
Sur le compte-rendu : calcul d'une concentration (en cellules et /ou en biomasse), en utilisant une correspondance fournie.	
Sur le compte-rendu : détermination d'une correspondance à partir d'une Absorbance et d'une concentration (en cellules ou en biomasse) mesurée ou fournie.	
Respect des procédures de sécurité	
Elimination dans un sac à autoclave pour matériel non recyclable des cuves parafilmées	
<b>Ajustement d'une culture ou d'une suspension microbienne</b>	
Mesure de l'absorbance sur la culture initiale ou sur une suspension riche dont $A > A_{\text{ajustée}}$	
Choix du volume à préparer (V final)	
Calcul du volume à prélever : Formule littérale, application numérique et unité. (A étant proportionnelle à X ou C : $A_{\text{initial}} \times V_{\text{initial}} = A_{\text{final}} \times V_{\text{final}}$ )	
Matériel de dilution correct	
Diluant correct	
Manipulation de la dilution correcte	
Mesure de l'absorbance ajustée ( $A_{\text{final}}$ ) pour vérification	
Conclusion critique de la vérification, sur le compte-rendu.	
Respect des procédures de sécurité	
Elimination correcte du matériel	
<b>Détermination de la concentration en biomasse par méthode pondérale</b>	
Pesée précise du récipient (si centrifugation) ou du filtre (si filtration)	
Mesure précise du volume à centrifuger ou à filtrer	
Centrifugation ou filtration correcte	
Lavages corrects du culot ou du filtrat	
Pesée précise de la biomasse humide	
Sur le compte-rendu, calcul de la concentration en biomasse humide, avec formule littérale, application numérique et les unités (g/L)	
Conditions de séchage	
Pesée précise de la biomasse sèche	
Sur le compte-rendu, calcul de la concentration en biomasse sèche, avec formule littérale, application numérique et les unités (g/L)	
Respect des procédures de sécurité	
Elimination correcte du matériel	

**INDICATEURS DE PERFORMANCE RELATIFS À LA MISE EN ŒUVRE  
D'UNE UNITE DE FERMENTATION (C1-7-1, 2 & 9)**

Connaissance du vocabulaire technique	
<b>Mise en route (après stérilisation, avant fermentation)</b>	
Positionnement conforme de la platine / cuve : bonne étanchéité, positionnement des pinces et des « tubing connector », circulation fluide des câbles	
Raccordement du système de thermorégulation : bonne gestion de la circulation d'eau pour la double enveloppe (2B) ou du positionnement de la couverture chauffante et de la circulation d'eau du réfrigérant (A+)	
Raccordement du système de refroidissement des gaz : filtre en sortie, connexion de la circulation de l'eau	
Raccordement du système d'agitation : moteur, pâles	
Raccordement du système d'aération : filtre, bulleur	
Raccordement du système de prélèvement	
Utilisation du système prélèvement : prélèvement homogène au contenu, chasse, volume défini	
Raccordement des sondes : pH, pO <sub>2</sub> , niveaux	
Raccordement à l'unité de contrôle et mise en route de celle-ci	
Raccordement des flacons éventuels	
Absence de contamination après la stérilisation	
Mise en œuvre du contrôle	
Calibrage des sondes	
Calibrage des pompes	
Programmation sur l'unité de régulation de la boucle de régulation	
Positionnement / zone de stérilité	
<b>Préparation pour la décontamination</b>	
Arrêt des fluides	
Débranchement des périphériques	
Protection des éléments pour l'autoclavage	
Gestion des variations de pression : Fermeture des orifices plongeurs, tube de respiration	
Respect des procédures de sécurité	
Élimination conforme des cultures et /ou du matériel utilisé	

**CONSERVER ET STOCKER LES AGENTS BIOLOGIQUES (C1-7-7 C1-4-6)**

Choix et exécution correcte de la technique	
Utilisation correcte du matériel	
Étiquetage conforme des souches ou matériels biologiques préparés	
Qualité conforme des souches ou matériels biologiques préparés	
Respect des procédures de sécurité	

**CROISSANCE DISCONTINUE DE MICROORGANISMES EN  
ERLENMEYER ET FERMENTEUR (C1-7-3, C1-7-4, C1-7-5, C1-7-8)**

<b>Réaliser la préculture et ensemercer le milieu de croissance C1-7-3</b>	
Estimation de la qualité de la préculture (pureté ...)	
Choix correct du volume de préculture à ensemercer	
Exécution correcte de l'ensemencement	
Respect des procédures de sécurité	
<b>Conduite de la croissance en erlen C1-7-4</b>	
Exécution correcte d'un prélèvement	
Exécution correcte des mesures d'absorbance	
Respect du protocole (temps, température..) et de d'équipement (bain thermostaté ...)	
Vérification de l'absence de contamination en fin de croissance	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	
Respect des procédures de sécurité	
<b>Traitement des données cinétiques C1-7-5</b>	
Présentation des résultats	
Tracé correct des cinétiques de croissance (papiers millimétré et/ou semilog et/ou par utilisation d'un tableur)	
Présentation des différentes phases de croissance	
Détermination des durées des différentes phases	
Définitions et calculs des vitesses spécifiques de croissance	
Définition et calcul du temps de génération	
Cinétique et paramètres cinétiques conformes aux valeurs attendues	
<b>Assurer l'élimination des cultures et des consommables C1-7-8</b>	
Elimination conforme des cultures	
Elimination conforme des consommables contaminés	
Nettoyage du plan de travail	
Respect des procédures de sécurité	

**TRAITEMENT PRIMAIRE DU MOÛT EN FIN DE FERMENTATION :  
SÉPARATION DE LA BIOMASSE (C1-7-6)**

Connaissance du vocabulaire technique	
Exécution correcte d'un prélèvement	
Mesure précise d'un volume	
Utilisation conforme du matériel (centrifugation, filtration)	
Séparation efficace du surnageant / biomasse : récupération maximale du surnageant dans un autre tube sans contamination élimination maximale du surnageant lors de la conservation de la biomasse	
Conservation dans la glace ou à une température spécifiée de la fraction étudiée	
Respect des procédures de sécurité	
Elimination conforme des cultures et /ou du matériel utilisé	
Réponse technique adaptée aux aléas de mise en oeuvre	

**ORGANISATION DU POSTE DE TRAVAIL,  
À LA SÉCURITÉ ET À L'ÉLIMINATION DES DÉCHETS (C2-1, C2-4)**

<b>Mettre sa blouse avant de s'installer dans le labo et la fermer</b>	
<b>S'attacher les cheveux si nécessaire</b>	
<b>Lavage des mains avant les manipulations si nécessaire</b>	
<b>Nettoyage du poste de travail avant les manipulations si nécessaire</b>	
<b><u>Avant les manipulations</u></b>	
Réaliser un recensement et une planification pertinente des travaux à réaliser	
Réaliser un inventaire exhaustif des besoins en matériel et en réactif	
Réaliser un inventaire exhaustif des dangers : Exemples : Microorganismes, flamme, verre, produits chimiques ...	
Faire une analyse des risques (Ex : Contamination, brûlure, coupure, blessure .....)	
Eviter les facteurs potentiels d'accidents. Ex : Déplacement avec un portoir à tube à essai contenant un tube type VF, allumer le bec Bunsen cheveux non suffisamment attachés, coupure en manipulant des lames de verre collées .....	
Choix des équipements de protection : Ex Blouse en coton, lunettes .....	
Respect des textes en vigueur. Ex : Manipulation de microorganismes de classe 2 en L2	
<b><u>Installation du poste de travail :</u></b>	
de manière à ne pas croiser les mains devant le bec Bunsen	
Bec Bunsen au milieu de la paillasse face à soi	
Bac à Javel à droite (droitier) ou à gauche (gaucher)	
Pot à instruments (anse+ pince + poire d'aspiration +...) à droite (droitier) ou à gauche (gaucher)	
Portoirs à tubes à gauche (droitier) ou à droite (gaucher)	
En général matériels recensés nécessaires aux manipulations : souches, milieux, lames, tubes ... à disposer à gauche (droitier) ou à droite (gaucher)	
Identification précise (numéro échantillon, nom du milieu , date ...) du matériel (Tubes, boîtes de Pétri ...)	
Allumage du bec Bunsen virole fermée et en position veilleuse si possible	
Utilisation d'un portoir pour se déplacer dans le laboratoire avec tubes, cuves ...	
<b><u>Pendant les manipulations : Application correcte des mesures de prévention prévues dans les procédures au cours des différentes étapes des manipulations</u></b>	
Travail stérile près du bec Bunsen allumé (virole ouverte)	
Stériliser l'anse à la flamme avant et après utilisation en commençant près du manche.	
Stériliser les pipettes Pasteur à la flamme avant utilisation et les immerger dans le bac à Javel (3°C) après contamination	
Stériliser l'ouverture et la fermeture des tubes	
Ne pas disposer de bouchons sur la paillasse (tenir si possible avec le petit doigt de la main droite ou gauche)	
Juste entrouvrir les boîtes de Pétri	
Jeter le petit matériel (cuves, papier, cônes ...) contaminé et non recyclable dans les sacs à autoclave « paillasse »	
Jeter le matériel non contaminé (papier, sachets de pipette...) dans la poubelle « paillasse »	
Pipeter à l'aide d'un système d'aspiration adapté	
Ne rien porter à la bouche	

INDICATEURS DE PERFORMANCE EN USAGE LORS DES ACTIVITES TECHNOLOGIQUES EN  
MICROBIOLOGIE GENIE FERMENTAIRE AU LYCÉE DE LA VALLEE DE CHEVREUSE

Eviter la formation d'aérosols	
Encombrement réduit du poste de travail	
Disposition du compte-rendu, des stylos, du protocole... le plus loin possible du poste de travail (coté externe à la paillasse)	
Utilisation d'un portoir pour se déplacer dans le laboratoire avec tubes, cuves ...	
Laisser toujours libre l'espace entre le bec Bunsen et le manipulateur	
Limiter les déplacements	
Laisser le bec Bunsen virole fermée pendant les déplacements	
Eteindre le bec Bunsen s'il est inutile	
Eviter de manipuler sur un papier filtre (exceptée la manipulation des lames pour un examen microscopique)	
<b><u>En fin de séance ou après certaines manipulations</u></b>	
Jeter le matériel plus volumineux (boîtes de Pétri, ampoules API, microplaques..) contaminé et non recyclable dans les sacs à autoclave « poste de décontamination »	
Effacer les inscriptions sur la verrerie	
Disposer la verrerie contaminée sur le « poste de décontamination » (tubes à hémolyses dans le sac à autoclave des produits recyclables et tubes à essais dans des paniers métalliques)	
Vider à l'évier la verrerie contenant les liquides non contaminés : eau, bouillon ... et disposer la verrerie et le bouchon dans des paniers métalliques disposés au « poste de décontamination »	
Rangement du poste de travail (même état qu'avant l'installation)	
Vider la « poubelle paillasse » dans la « poubelle salle »	
Désinfection et nettoyage du poste de travail à l'aide de gant de ménage : RBS, Eau, Eau de Javel à 1,2 °cl	
Rangement et extinction éventuelle des autres postes du labo : spectrophotomètre, bain thermostaté ...	
Lavage soigneux des mains	
Rangement de la blouse dans le placard	
<b><u>Intervention justifiée de la conduite à tenir par rapport à la nature et à la gravité d'un dysfonctionnement</u></b>	
<b><u>Décontamination accidentelle : culture microbienne sur une surface</u></b>	
Mettre un gant en latex, éliminer avec du papier absorbant et jeter dans de le sac à autoclave gant + papier souillé.	
Mettre les gants de ménage et disposer sur la contamination de l'eau de Javel à 1,2°cl. Laisser agir 15 minutes. Nettoyer avec du papier et jeter dans la poubelle paillasse.	