

Annexe A.2.1 : Préparation de milieux de culture et contrôles de performance (Norme ISO 11133)

Approche didactique		
Activités professionnelles du référentiel 1.2. Gestion des consommables 2.4. Contrôle qualité interne et externe du laboratoire 4.1. Communication en lien avec la réalisation des analyses		
Compétences et savoirs faire travaillés – Indicateurs d'évaluation		
Compétences	Savoirs faire	Indicateurs d'évaluation
BC1 – C1.1 <i>Assurer le bon fonctionnement du laboratoire</i>	S1.1.2 Contrôler les stocks des réactifs et consommables	Le calcul des quantités nécessaires et le calcul des coûts sont corrects. Les mouvements d'entrée et de sortie sont enregistrés.
BC2 - C2.2 Organiser les analyses selon le plan de charge du laboratoire	S2.2.5 Réaliser la préparation des réactifs et milieux	Les quantités nécessaires sont calculées. La préparation des milieux et réactifs est conforme à la procédure.
BC2 - C2.4. Réaliser des analyses au laboratoire de microbiologie	S2.4.1. Organiser le poste de travail en fonction des contraintes d'asepsie	Les conditions de travail aseptique sont respectées. Le bionettoyage du poste de travail est réalisé.
	S2.4.2. Appliquer des mesures de prévention du risque biologique	Le comportement dans le laboratoire est adapté.
	S2.4.3. Réaliser une détection, une identification d'un microorganisme ou de ses toxines	L'orientation microbiologique est réalisée de façon complète et en autonomie par des moyens de microscopie et biochimiques. L'identification est conduite de façon logique et rigoureuse. Les valeurs expérimentales obtenues sont fiables.
	S2.4.4. Réaliser une quantification de microorganismes	La quantification après dilutions est réalisée en autonomie. La quantification par mesure d'absorbance est réalisée en autonomie.
BC2 - C2.7. Valider la conformité des analyses	S2.7.3. Réaliser le contrôle de la qualité des milieux et réactifs	La qualité des milieux et des réactifs est contrôlée rigoureusement en respectant les normes ou procédures.
	S2.7.4. Procéder à la validation des résultats d'analyses à l'aide de contrôles	Les résultats obtenus pour les contrôles sont lus et exploités.
	S2.7.5. Réagir en cas de non-conformité du contrôle	La règle des 5M est utilisée pour trouver des sources d'erreurs. Des actions correctives adaptées sont effectuées.
BC2 - C2.8. Rendre compte des résultats	S2.8.1 Assurer l'enregistrement des résultats d'analyses	Le respect de la traçabilité des échantillons, des matériels et réactifs est assurée jusqu'au rapport d'analyse.
	S2.8.2. Analyser des résultats expérimentaux pour déterminer le résultat d'analyse	Les calculs traitant les résultats expérimentaux sont correctement effectués.
	S2.8.3. Rédiger des conclusions	La conclusion répond à l'objectif fixé.

		La conclusion ouvre sur des actions correctives.
<i>BC4 - C4.1. S'intégrer dans une équipe ou un réseau professionnel</i>	S4.1.2. Identifier la position de chaque acteur dans l'environnement de travail	Les rôles, les missions et les responsabilités des interlocuteurs sont connus.
<p>Savoirs associés</p> <p>Au BC1 :</p> <p>T1.1 Maîtrise des informations documentées</p> <ul style="list-style-type: none"> • Traçabilité : notion de lot, traçabilité interne, consignes d'étiquetage. <p>Au BC2 :</p> <p>T2.1 Documentation scientifique, technique et normative au laboratoire</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cadre normatif au cours des analyses : méthode normalisée • Documents d'enregistrement : traçabilité, étiquetage <p>T2.2 Technologie des analyses au laboratoire</p> <ul style="list-style-type: none"> • Plan de charge : planification • Caractéristiques des méthodes : méthode qualitative/quantitative, étape pré-analytique/étape analytique/étape post-analytique • Eléments de principes des méthodes de microbiologie : milieu de culture, identification de microorganismes, quantification de microorganismes <p>T2.3 Garantie de la conformité des résultats</p> <ul style="list-style-type: none"> • Métrologie : incertitude • Conception et utilisation de contrôles : contrôle interne <p>Au BC4 :</p> <p>T4.2 Métiers et interactions dans les secteurs des bioanalyses et contrôles</p> <ul style="list-style-type: none"> • Connaissance du milieu professionnel • Parties prenantes d'un laboratoire d'analyse et contrôle qualité 		

Approche pédagogique	
Titre de séquence	Préparation de milieux de culture et contrôles de performance (Norme ISO 11133)
Estimation de la durée	17 heures réparties en 7 séances
Place dans la formation	2 ^{ème} semestre 1 ^{ère} année
Contexte professionnel	Un laboratoire de contrôle propose à son catalogue différentes analyses microbiologiques. Afin de respecter les différentes certifications associées, les milieux de culture doivent être régulièrement contrôlés.
Situation professionnelle	<p>Technicienne ou technicien dans ce laboratoire sous-traitant en microbiologie, vous devez préparer et contrôler des milieux de culture permettant la recherche de salmonelles et le dénombrement des entérobactéries. Les activités à réaliser dans ce cadre :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Appropriation de la norme ISO 11133 : préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture. • Planification du travail de production et de contrôle des milieux. • Contrôle des stocks de milieux. • Contrôle des caractéristiques microbiologiques des souches bactériennes utilisées pour les essais de performance. • Préparation des milieux de culture. • Contrôles de la stérilité, de la fertilité et de la sélectivité des milieux préparés. • Exploitation des résultats.
Moyens et	S2.1.3. Normes, référentiels et guides :

ressources	Norme ISO 11133 (sur Sagaweb) S2.8.2. Outils numériques : Feuille Excel Taxon pour identification bactérienne	
Objectif général de la séquence	Préparer des milieux de culture et contrôler leurs performances avant utilisation en analyse de routine.	
Pré-requis	<ul style="list-style-type: none"> - Travail en conditions aseptiques (S2.4.1.) - Méthodes d'identification bactérienne (S2.4.3.) - Dénombrement dans la masse (S2.4.4.) 	
Séances	Contenu	Modalités pédagogiques
Séance 1 (2h) Développement de partenariats avec les laboratoires de contrôle qualité (Classe entière)	Intervention d'un responsable de laboratoire : <i>Objectifs :</i> <ul style="list-style-type: none"> - Interview du professionnel sur son entreprise et ses responsabilités - Présentation des enjeux du contrôle qualité des milieux de culture en microbiologie - Présentation et appropriation de la norme ISO 11133 - Présentation de la mise en œuvre de la norme ISO 11133 dans le laboratoire (temps de travail technicien, impact financier, organisation...). 	Préparation de questions en amont Interview du professionnel Synthèse des informations par certains élèves.
Séance 2 (3 h) Laboratoire de microbiologie	Planifier le travail <i>Objectif : prévoir un organigramme et un planning de travail basés sur les exigences de la norme ISO 11133.</i> Gérer les stocks de milieux et de consommables <i>Objectifs :</i> <ul style="list-style-type: none"> - Évaluer les quantités de milieux et de consommables nécessaires - Renseigner les sorties de milieux et consommables des stocks - Mettre en œuvre la traçabilité des milieux préparés. Préparer des milieux de culture <i>Objectifs :</i> <ul style="list-style-type: none"> - Respecter les consignes techniques de préparation des milieux - Conditionner des milieux - Autoclaver des milieux 	Travail en groupes de 3 Présentation orale Production d'un organigramme commun Travail en groupes de 3 Interaction avec la technicienne de laboratoire Travail en groupes de 3 : chaque groupe prépare un milieu Présentation des points de vigilance et de la programmation de l'autoclave par la technicienne
Séance 3 (2 h) Laboratoire de microbiologie	Contrôler les caractéristiques microbiologiques des souches utilisées pour les contrôles de performance <i>Objectif : vérifier le genre et l'espèce des souches bactériennes (Réalisation des</i>	<i>Travail individuel</i>

	<p><i>analyses).</i></p> <p>Initiation à la préparation d'une suspension bactérienne calibrée <i>Objectif : présenter la démarche et mettre en œuvre une première fois la préparation d'une suspension bactérienne calibrée par spectrophotométrie et dilutions en série.</i></p>	<p><i>Présentation de la démarche</i> <i>Réalisation technique individuelle</i></p>
<p>Séance 4 (3 h) Laboratoire de microbiologie</p>	<p>Contrôler les caractéristiques microbiologiques des souches utilisées pour les contrôles de performance <i>Objectif : vérifier le genre et l'espèce des souches bactériennes (lire et exploiter les résultats).</i></p> <p>Contrôler les performances des milieux de culture préparés et stérilisés <i>Objectif : contrôler la stérilité, la fertilité et la sélectivité des milieux (réaliser les analyses)</i></p>	<p>Travail individuel</p>
<p>Séance 5 (2 h) Laboratoire de microbiologie</p>	<p>Contrôler les performances des milieux de culture préparés et stérilisés <i>Objectif : contrôler la stérilité, la fertilité et la sélectivité des milieux (lire et exploiter les résultats)</i></p>	<p>Travail individuel</p>
<p>Séances 6 et 7 (3 h et 2 h) Laboratoire de microbiologie</p>	<p>Évaluation sommative L'évaluation prend appui sur un autre contexte professionnel et portera sur les mêmes compétences et indicateurs d'évaluation. Les savoirs associés sont à mobiliser pour analyser, justifier, argumenter les réponses.</p>	<p>Travail individuel en autonomie</p>