



2019	Séquence – B
TP – 04	Rechercher un intrus
Jour 01	

<p>Introduction</p> <p>Nous avons déjà parlé de la nécessité de contrôler les processus biotechnologiques, pour s'assurer de leur réussite. Le nombre et la vitalité des cellules est un paramètre très important, et a déjà été abordé. Un autre problème peut survenir : la contamination d'un processus biotechnologique par un microorganisme qui n'est pas désiré. Cette contamination peut provoquer l'arrêt du processus, son détournement ou son intoxication. Dans tous les cas, l'objectif biotechnologique n'est pas atteint, avec des conséquences plus ou moins malheureuses pour le consommateur.</p>	
<p>Problématique</p> <p><i>Comment mettre en évidence la trace d'une contamination ? Comment séparer des cellules dans un mélange ?</i></p>	
<p>Objectifs méthodologiques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ensemencement en surface ; • Utilisation d'un milieu sélectif ; • Identification d'une bactérie ; • Tests enzymatiques ; • Gérer les déchets. 	<p>Connaissances</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les qualités organoleptiques d'un produit ; • Les milieux sélectifs ; • Les tests enzymatiques.
<p>Points de vigilance</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ne pas respecter l'asepsie ; • Ne pas respecter les protocoles fournis ; • Ne pas respecter la gestion des déchets ; • Se tromper dans les tests enzymatiques ; • Les calculs d'UFC par mL. 	<p>Livrables – Evaluation</p> <ul style="list-style-type: none"> • Jour 03 – Consigne 01
<p>Organisation du travail</p> <ul style="list-style-type: none"> • Travail individuel ; • Réaliser la totalité du travail dans le temps imparti. 	
<p>Documentation</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Document 01 ➤ Document 02 ➤ Document 03 	<p>Fiches techniques</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ FT01-OBS03 ➤ FT02-DEN03 ➤ FT03-TR03 ➤ FT06-IDE01

Consigne 1 – Le risque microbiologique en brasserie

1. **Rappeler** en quoi consiste la brasserie ;
2. **Rappeler** les principaux ingrédients nécessaires pour la brasserie ;
3. **Analyser** le document 01. **Conclure** sur la dangerosité d'une contamination microbienne de la bière : pour le consommateur, pour la qualité du produit final ;
4. **Analyser** le document 02. **Identifier** plusieurs risques pour la qualité finale de la bière, en cas de contamination. **Justifier** que le processus ne présente pas de risque d'intoxication ;

2

Consigne 2 – Un type de contamination – Les bactéries lactiques

Le document 03 présente le résultat de la fermentation du glucose en acide lactique.

5. **Indiquer** l'origine du glucose dans le cas de bière ;
6. **Justifier** que le pyruvate et le lactate soient des acides ;
7. **Justifier** que la fermentation lactique soit dite « agazogène ». **Citer** une fermentation dite « gazogène » ;

La glycolyse consomme du NAD pour fabriquer du pyruvate. Ce NAD est régénéré par la respiration cellulaire (consommation de O₂).

8. **Justifier** que la glycolyse puisse se réaliser dans un milieu sans dioxygène, si elle est suivie par une fermentation lactique ;

Consigne 3 – Recherche d'une bactérie contaminante

9. **Proposer** une procédure permettant de mettre en évidence une bactérie contaminante dans un levain de bière (uniquement des levures) ;
10. **Lister** le matériel nécessaire pour réaliser cette procédure ;
11. **Réaliser** l'ensemencement en surface de la suspension de levain de bière (Lb), selon les consignes de la fiche technique FT02-DEN03.

2019	Séquence – B
TP – 04	Rechercher un intrus
Jour 02	

Consigne 1 – Analyse des résultats du jour 01

1. **Décrire** l'aspect de la boîte de Pétri ;
2. **Présenter** la démarche utilisée pour identifier les bactéries sur la gélose, et non pas les levures ;
3. **Réaliser** le comptage des bactéries contaminantes sur la gélose ;
4. **Déterminer** la concentration en bactéries contaminantes dans la solution Lb, en UFC par mL ;

Consigne 2 – La notion de milieu sélectif

5. **Justifier** que la consigne 1 a été une perte de temps...
6. **Réaliser** le TD BD03 ;
7. **Proposer** une procédure permettant d'obtenir les bactéries contaminantes mais pas les levures ;
8. **Lister** le matériel nécessaire à la réalisation de cette procédure ;
9. **Mettre** en œuvre cette procédure, à partir de la suspension Lb.



2019	Séquence – B
TP – 04	Rechercher un intrus
Jour 03	

Consigne 1 – Analyse des résultats du jour 02

1. **Décrire** l'aspect de la boîte de Pétri ;
2. **Justifier** que seules les bactéries ont pu pousser sur la gélose ;
3. **Réaliser** le comptage des bactéries contaminantes sur la gélose ;
4. **Déterminer** la concentration en bactéries contaminantes dans la solution Lb, en UFC par mL ;

Consigne 2 – GRAM

5. **Préparer** une suspension bactérienne à partir des colonies développées sur la gélose. **Respecter** une concentration de 1 MF ;
6. **Réaliser** la coloration de GRAM des bactéries, selon les consignes de la fiche technique FT01-OBS03.
7. **Présenter** les résultats obtenus de façon adéquate ;

Consigne 3 – Les tests enzymatiques

8. **Présenter** la fiche technique FT06-IDE01 ;
9. **Justifier** que les tests enzymatiques soient des caractères de classification ;
10. En s'aidant de la fiche technique FT03-TR03, **donner** les valeurs que peuvent adopter les tests enzymatiques ;
11. A partir de votre résultat de GRAM, **sélectionner** le test pertinent ;
12. **Réaliser** le test enzymatique, selon les consignes de la fiche technique FT03-TR03 ;
13. **Présenter** les résultats du test effectué ;
14. **Proposer** une orientation possible pour la souche contaminante du levain de bière, en s'aidant de la fiche FT06-IDE01. Si un doute est présent, **proposer** une expérience permettant de lever le doute !
15. **Indiquer** si cette souche aurait mis en péril la qualité de la bière ou la santé des consommateurs.