

ANALYSES ET CONTRÔLES DANS LE CADRE DE LA FABRICATION D'UN FROMAGE

1 - Analyse de la croissance des ferments de fabrication (19,5 points)

1.1 - Croissance et conservation des bactéries lactiques

1.1.1 - *Leuconostoc, Pediococcus, Lactococcus, Aerococcus...*

1.1.2 -

1.1.2.1 - Analyser : 4 phases habituelles dans la courbe de croissance.

1.1.2.2 - Production d'acide lactique pendant les phases exponentielle et stationnaire.

G = environ 1 h

μ = environ $0,7 \cdot h^{-1}$

μ = vitesse spécifique de croissance pendant la phase exponentielle.

G = temps nécessaire pour que la population double

1.1.2.3 - D'après le document 2, la multiplication des bactéries lactiques entraîne une acidification du lait.

D'après le document 1, la présure en milieu acide permet la coagulation de la caséine donc le caillage du lait, étape essentielle à la fabrication du fromage.

1.1.2.4 - Fermentation homolactique : formation essentiellement d'acide lactique.

Fermentation hétérolactique : formation d'acide lactique et d'autres produits (acide acétique ; éthanol ; CO_2).

1.1.3 - Congélation lente à $-80^\circ C$ en utilisant un cryoprotecteur (glycérol).

Lyophilisation : utilisation d'un agent protecteur (lait ou glycérol à 10 %).

1.1.4 - Le sel inhibe la flore contaminante (et participe aux qualités organoleptiques du fromage contribue à la formation de la croûte du fromage).

1.2 - Facteurs influençant la culture des bactéries lactiques

1.2.1 - Milieu complet car présence de :

- Source de carbone et d'énergie : le lactose
- Source d'azote : acides aminés et secondairement les protéines et les peptides
- Eau + ions minéraux : Na^+ ; Cl^-
- Des facteurs de croissance : vitamines.....

1.2.2 -

1.2.2.1 - Courbe a : courbe type montrant classiquement 3 phases : une phase de latence, une phase exponentielle de croissance et une phase stationnaire.

Courbe b : Pas de phase de latence ; deux phases de croissance exponentielle séparées par une phase stationnaire.

Durant la première phase exponentielle la bactérie utilise les acides aminés libres comme source d'azote. La phase stationnaire correspond à l'épuisement du milieu en acides aminés libres. La deuxième phase de croissance exponentielle se met en place quand la bactérie dégrade les protéines présentes dans le milieu car il s'agit d'une souche protéase +.

1.2.2.2 - La concentration finale en *Streptococcus thermophilus* en culture mixte est plus importante qu'en culture pure. *Lactobacillus delbrueckii* dégrade les protéines grâce à sa protéase de paroi et permet ainsi une meilleure croissance de *Streptococcus thermophilus*.

1.2.2.3 - Choisir des souches présentant une complémentarité leur permettant de mieux cultiver et/ou d'être plus efficace, souche protéase \oplus . (Le jury appréciera la pertinence de la réponse du candidat).

2 - Contrôle du lait avant transformation (21,5 points)

2.1 - Action d'agents antibactériens

2.1.1 -

2.1.1.1 - Ensemble des microorganismes apportés secondairement dans les bioproduits lors de sa fabrication, sa transformation ou son stockage.

Il s'agit de microorganismes provenant des milieux naturels (eau, sol, air) ou du manipulateur (bactéries commensales), du matériel.

2.1.1.2 - Abaissement de la température à au moins 4°C pour ralentir la multiplication des bactéries mésophiles (flore exogène).

2.1.1.3 - Après 4 jours de conservation, la proportion de *Pseudomonas* a augmenté car contrairement à la plupart des bactéries du lait, elle se multiplie à 4 °C car elle est psychrotrophe.

2.1.1.4 - Altération des qualités organoleptiques du fromage. *Pseudomonas* possède des protéases dégradant les protéines du fromage.
Accepter lipolyse ⇒ rancissement.

2.1.2 -

2.1.2.1 - Destruction par la chaleur de la plupart des bactéries et en particulier des bactéries pathogènes.

Si le pH est trop faible, le lait va coaguler sous l'effet de la chaleur dans les conduits du pasteurisateur.

2.1.2.2 - Différentes étapes :

- Rinçage à l'eau froide pour éliminer les résidus du lait
- Passage d'une solution basique à chaud pour éliminer les substances organiques.
- Rinçage à l'eau froide pour éliminer la solution basique.
- Passage d'une solution acide pour éliminer les substances minérales
- Rinçage à l'eau froide pour éliminer la solution acide
- Passage d'une solution de désinfectant pour éliminer les microorganismes
- Rinçage à l'eau froide pour éliminer le désinfectant

Le jury appréciera la pertinence de la réponse.

2.2 - Recherche d'antibiotiques dans le lait

2.2.1 -

2.2.1.1 - Les β lactamines inhibent la synthèse du peptidoglycane (transpeptidation) de la paroi. Agissent essentiellement sur les bactéries Gram +.

Pénicilline G, ampicilline, céphalosporine...

2.2.1.2 - Inhibition de la multiplication des bactéries lactiques ; pas d'acidification du lait et donc pas de coagulation du lait (ou autre réponse logique).

2.2.2 -

2.2.2.1 - Milieu de culture + spores de *Geobacillus stearothermophilus* + 100 μ L de lait sans antibiotique. (Le lait est de même nature que celui des essais) (vache, lait, brebis).

(Germination des spores) puis multiplication bactérienne. Fermentation du glucose et acidification du milieu d'où virage au jaune de l'indicateur de pH : le BCP.

2.2.2.2 - Violet. Pas de multiplication bactérienne due à la présence d'antibiotique ; pas d'acidification ; pas de virage du BCP.

2.2.2.3 - *Geobacillus stearothermophilus* est une bactérie thermophile. Les bactéries mésophiles éventuellement contaminantes ne perturberont pas le résultat du test.

2.2.3 - Présence de moisissures dans les aliments (ensilage....). Mycotoxine.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES - Éléments de corrigé		Session 2016
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT/Bis	Page : 2/5

3 - Contrôle microbiologique du produit fini (19 points)

3.1 - Analyses microbiologiques réalisées par l'entreprise

3.1.1 -

Critère	Stade d'application	Nature des microorganismes	Solution
Critère de sécurité	Applicable au produit mis sur le marché	Microorganismes pathogènes	Produit retiré du marché
Critère hygiène des procédés	Applicable pendant le procédé de fabrication	Microorganismes indicateurs d'une contamination	Mise en route d'actions correctives

3.1.2 -

3.1.2.1 - La présence d'*Escherichia coli* dans le fromage témoigne d'une contamination fécale.

3.1.2.2 - Les intoxications alimentaires sont des maladies contractées à la suite de l'ingestion d'aliments contaminés par des agents pathogènes ou des substances néfastes pour la santé.

3.1.2.3 -

- Adhésion des bactéries aux entérocytes grâce à une adhésine : l'intestinaline
- Induction de la phagocytose par les entérocytes
- Lyse de la membrane du phagosome avant la fusion avec les lysosomes grâce à la listériolysine O et à une phospholipase C. Les *Listeria* sont alors libres dans le cytoplasme
- Multiplication des bactéries dans le cytoplasme de l'entérocyte
- Polymérisation de l'actine créant des comètes qui propulsent les bactéries dans les entérocytes voisins...

3.2 - Utilisation d'une méthode alternative pour la recherche de *Listeria monocytogenes*

3.2.1 - Milieu Fraser $\frac{1}{2}$: Enrichissement primaire ou pré-enrichissement sélectif, il permet la revivification et la multiplication des *Listeria* stressées et limite le développement des autres bactéries.
Milieu Fraser : Enrichissement secondaire plus sélectif de *Listeria*.

3.2.2 - Le conjugué est constitué d'anticorps anti *Listeria monocytogenes* liés à la phosphatase alcaline. Aspect du cône dans le cas d'un résultat positif : le schéma doit représenter : la surface du cône sur laquelle sont fixés dans l'ordre : Ac anti *Listeria monocytogenes* – *Listeria monocytogenes* – Conjugué.

3.2.3 - À partir du bouillon Fraser :

- Isolement sur milieu sélectif des *Listeria* (Ottaviani – Agosti et PALCAM (ou Oxford). Incubation à 30, 35 ou 37°C pendant 24 à 48 h.
- Repérage d'une colonie suspecte et isolement sur milieu non sélectif tel que gélose TSAYE. Incubation 24 h à 37°C
- Examen microscopique, test catalase et ensemencement d'une galerie telle que Api *Listeria*
- Lecture de la galerie et confirmation

3.2.4 - Immunochromatographie, immunofluorescence.

3.3 - Dénombrement d'*Escherichia coli* dans le fromage

3.3.1 - Cultive à 44°C y compris en présence de sels biliaires. Possède la β glucuronidase.

3.3.2 -

F1	F2	F3	F4	F5
$5,0 \cdot 10^1$ UFC/g < m	$8,5 \cdot 10^1$ UFC/g < m	$1,2 \cdot 10^2$ UFC/g m < R < M	$9,4 \cdot 10^1$ UFC/g < m	$1,4 \cdot 10^2$ UFC/g m < R < M

(Cinq échantillons doivent être testés (n = 5))

Trois résultats sont satisfaisants et deux résultats sont compris entre m et M ;
or c = 2 donc la qualité est acceptable.

ANALYSES ET CONTRÔLES DANS LE CADRE DE LA FABRICATION D'UN FROMAGE

1 - Analyse de la croissance des ferments de fabrication (19,5 points)

1.1 - Croissance et conservation des bactéries lactiques (12,5 points)

1.1.1 -	1,5 point
1.1.2 - (8 points)	
1.1.2.1 -	1 point
1.1.2.2 -	3 points
1.1.2.3 -	2 points
1.1.2.4 -	2 points
1.1.3 -	2 points
1.1.4 -	1 point

1.2 - Facteurs influençant la culture des bactéries lactiques (7 points)

1.2.1 -	2,5 points
1.2.2 - (4,5 points)	
1.2.2.1 -	2,5 points
1.2.2.2 -	1 point
1.2.2.3 -	1 point

2 - Contrôle du lait avant transformation (21,5 points)

2.1 - Action d'agents antibactériens (10 points)

2.1.1 - (5,5 points)	
2.1.1.1 -	2 points
2.1.1.2 -	1 point
2.1.1.3 -	1,5 point
2.1.1.4 -	1 point
2.1.2 - (4,5 points)	
2.1.2.1 -	2 points
2.1.2.2 -	2,5 points

2.2 - Recherche d'antibiotiques dans le lait (11,5 points)

2.2.1 - (4 points)	
2.2.1.1 -	2,5 points
2.2.1.2 -	1,5 point
2.2.2 - (6,5 points)	
2.2.2.1 -	3,5 points
2.2.2.2 -	2 points
2.2.2.3 -	1 point
2.2.3 -	1 point

3 - Contrôle microbiologique du produit fini (19 points)

3.1 - Analyses microbiologiques réalisées par l'entreprise (7 points)

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES - Barème		Session 2016
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT/Bis	Page : 4/5

3.1.1 -	2 points
3.1.2 - (5 points)	
3.1.2.1 -	1 point
3.1.2.2 -	1 point
3.1.2.3 -	3 points
3.2 - <u>Utilisation d'une méthode alternative pour la recherche de <i>Listeria monocytogenes</i></u> (7 points)	
3.2.1 -	2 points
3.2.2 -	2 points
3.2.3 -	2 points
3.2.4 -	1 point
3.3 - <u>Dénombrement d'<i>Escherichia coli</i> dans le fromage</u> (5 points)	
3.3.1 -	2 points
3.3.2 -	3 points