

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR BIOANALYSES ET CONTRÔLES

2^{ème} JOUR

Durée de l'épreuve : 2 H

Épreuve E5 - Unité U52

Techniques de microbiologie

Au cours de l'épreuve, le jury appréciera les qualités d'organisation, respect des règles d'hygiène et de sécurité en laboratoire.

Pour une bonne réalisation de l'épreuve, une gestion optimale du temps imparti est nécessaire en fonction des temps d'incubation. Le candidat prendra soin de bien lire l'ensemble du sujet avant de commencer les manipulations.

Documents interdits - Calculatrice autorisée

ÉPREUVE E5. UNITÉ U52
Techniques de microbiologie
2^{ème} JOUR

ANALYSES ET CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES DE LAITS

PARTIE 1 - ANALYSE D'UN LAIT PASTEURISÉ CONDITIONNÉ **(52 points)**

1 - Recherche et dénombrement de la flore d'altération. (28 points)

1.1 - Milieux ensemencés au Jour 1 :

- Flore aérobie mésophile : 8 géloses PCA + 1 % lait (4 dilutions, chacune en double essai), ensemencées avec les dilutions 10^0 à 10^{-3} , et incubées à 30°C.
- Coliformes totaux : les résultats du dénombrement sont fournis : NPP = 200 coliformes/mL.
- Coliformes thermotolérants : 12 BLBVB + cloche (4 dilutions, chacune en triple essai), ensemencés avec les dilutions 10^0 à 10^{-3} , et incubées à 44°C.

1.2 - Critères de référence.

Arrêté «Lait pasteurisé» du 21/06/82, fixant les normes d'hygiène et de salubrité auxquelles doit répondre le lait pasteurisé conditionné (JO du 11/07/82).

Le lait pasteurisé conditionné doit être exempt de microorganismes ou de toxines dangereuses pour la santé publique et satisfaire aux critères suivants 4 jours après son conditionnement :

| Germes totaux à 30°C | Coliformes totaux à 30°C | Coliformes thermotolérants | Salmonella | S. aureus |
|----------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------|-----------|
| $3 \cdot 10^4$ / mL | 10 / mL | Absence dans 1 mL | Absence dans 250 mL | 1 / mL |

1.3 - Compte rendu.

1.3.1 - Procéder au dénombrement de la flore aérobie mésophile.

Présenter les résultats sous forme de tableau.

Effectuer le calcul en utilisant la formule normalisée AFNOR figurant en **annexe 1**.

1.3.2 - Procéder au dénombrement des coliformes thermotolérants.

Quel doit être l'aspect d'un BLBVB positif ? Justifier.

Présenter les résultats sous forme de tableau.

Effectuer le calcul en utilisant la table de Mc Grady figurant en **annexe 2**.

1.3.3 - Pour chaque dénombrement, compléter les schémas des plans à 2 et 3 classes utilisés représentés en **annexe 3**.

Préciser notamment les valeurs des grandeurs seuils, calculées à partir des critères données par le JO (tableau ci-dessus) pour chacun des dénombrements.

1.3.4 - Conclure quant à la conformité microbiologique de l'échantillon de lait pasteurisé, LP₁.

2 - Contrôle de pasteurisation. (11 points)

Partie traitée en J1.

3 - Recherche de pénicilline dans du lait par la méthode de confirmation sur milieu gélosé. (13 points)

A partir de la boîte ensemencée au jour 1 :

Schématiser les résultats obtenus.

Interpréter ces résultats.

Conclure quant à la conformité des laits testés.

PARTIE 2 - CONTRÔLE MICROBIOLOGIQUE D'UNE PRÉPARATION POUR L'ALIMENTATION DES ENFANTS EN BAS-ÂGE

Identification d'un contaminant dans une poudre déshydratée à base de soja : (28 points)

1 - Milieuxensemencés au Jour 1 :

- Microgalerie : API20E, incubée à 37°C.
- Milieux complémentaires : GTS en boîte, gélose VF.

2 - Compte rendu.

Réaliser et présenter la lecture des milieuxensemencés, à l'aide du document API fourni.
Procéder à une identification du contaminant bactérien à l'aide d'un logiciel d'identification adapté.
Conclure par rapport au contexte.

ANNEXE 1 : FORMULE NORMALISÉE AFNOR

$$N = \frac{\sum C}{v (n_1 + 0,1 \times n_2) d}$$

- **N** : nombre d'UFC par mL,
- **ΣC** : somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues.
- **n₁** : nombre des boîtes retenues à la première dilution,
- **n₂** : nombre des boîtes retenues à la deuxième dilution,
- **d** : taux de dilution de la première dilution.
- **v** : volume de l'inoculum.

ANNEXE 2 : TABLE DE MAC GRADY

| Nombre de tubes positifs au niveau de trois taux de dilution retenus | | | NPP | <u>Limites de confiance</u> | | | | Catégories* | |
|--|-------------------|--------------------|-------|-----------------------------|------|--------|------|-------------|---|
| 3 tubes 1 mL | 3 tubes 0,1 mL | 3 tubes 0,01 mL | | à 95 % | | à 99 % | | 1 | 2 |
| 0 | 0 | 0 | < 0,3 | | | | | | |
| 0 | 0 | 1 | 0,3 | < 0,1 | 1,7 | < 0,1 | 2,3 | | |
| 0 | 1 | 0 | 0,3 | < 0,1 | 1,7 | < 0,1 | 2,3 | | x |
| 0 | 2 | 0 | 0,6 | 0,2 | 2,3 | 0,1 | 2,9 | | |
| 1 | 0 | 0 | 0,4 | 0,1 | 2,1 | < 0,1 | 2,8 | x | |
| 1 | 0 | 1 | 0,7 | 0,2 | 2,7 | 0,1 | 3,5 | | x |
| 1 | 1 | 0 | 0,7 | 0,2 | 2,8 | 0,1 | 3,6 | x | |
| 1 | 1 | 1 | 1,1 | 0,4 | 3,4 | 0,2 | 4,3 | | |
| 1 | 2 | 0 | 1,1 | 0,4 | 3,5 | 0,2 | 4,4 | | x |
| 1 | 2 | 1 | 1,5 | 0,6 | 4,1 | 0,4 | 5,1 | | |
| 1 | 3 | 0 | 1,6 | 0,6 | 4,2 | 0,4 | 5,2 | | |
| 2 | 0 | 0 | 0,9 | 0,2 | 3,8 | 0,1 | 5,0 | x | |
| 2 | 0 | 1 | 1,4 | 0,5 | 4,8 | 0,3 | 6,2 | | x |
| 2 | 1 | 0 | 1,5 | 0,5 | 5,0 | 0,3 | 6,5 | x | |
| 2 | 1 | 1 | 2,0 | 0,8 | 6,1 | 0,5 | 7,7 | | x |
| 2 | 2 | 0 | 2,1 | 0,8 | 6,3 | 0,5 | 8,0 | x | |
| 2 | 2 | 1 | 2,8 | 1,1 | 7,5 | 0,7 | 9,3 | | |
| 2 | 3 | 0 | 2,9 | 1,2 | 7,8 | 0,8 | 9,7 | | |
| 3 | 0 | 0 | 2,3 | 0,7 | 12,9 | 0,4 | 17,7 | x | |
| 3 | 0 | 1 | 4 | 1 | 18 | 1 | 23 | x | |
| 3 | 0 | 2 | 6 | 2 | 23 | 1 | 29 | | |
| 3 | 1 | 0 | 4 | 2 | 21 | 1 | 29 | x | |
| 3 | 1 | 1 | 7 | 2 | 28 | 2 | 37 | x | |
| 3 | 1 | 2 | 12 | 4 | 35 | 2 | 45 | | |
| 3 | 2 | 0 | 9 | 3 | 39 | 2 | 52 | x | |
| 3 | 2 | 1 | 15 | 5 | 51 | 3 | 65 | x | |
| 3 | 2 | 2 | 21 | 8 | 64 | 5 | 82 | | x |
| 3 | 2 | 3 | 29 | 12 | 80 | 8 | 99 | | |
| 3 | 3 | 0 | 20 | 10 | 140 | <10 | 190 | x | |
| 3 | 3 | 1 | 50 | 20 | 240 | 10 | 320 | x | |
| 3 | 3 | 2 | 110 | 30 | 480 | 20 | 640 | x | |
| 3 | 3 | 3 | >110 | | | | | | |

J.C. de Man European J Appl. Microbiol. 1,67 - 78 (1975)

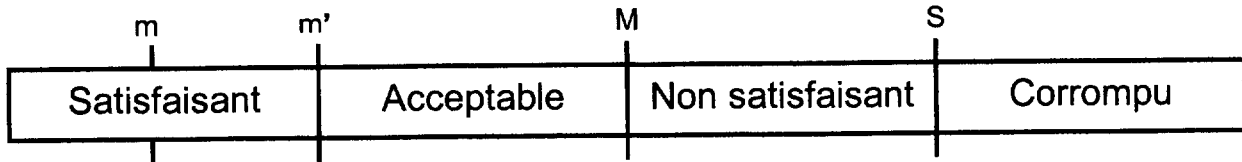
(*) catégorie 1 : combinaisons de tubes les plus fréquentes correspondant à 95% des cas.

catégorie 2 : combinaisons de tubes moins fréquentes que la catégorie 1 et correspondent à seulement 4% des cas.
L'obtention de combinaisons hors catégorie doit inciter à considérer le résultat avec circonspection.

ANNEXE 3 : SCHÉMAS DES PLANS D'ÉTUDES À 2 ET 3 CLASSES

Référence du Candidat (numéro de poste) :

Plan à 3 classes :

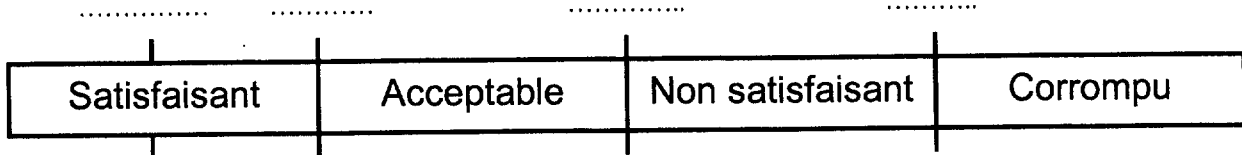


Rappels :

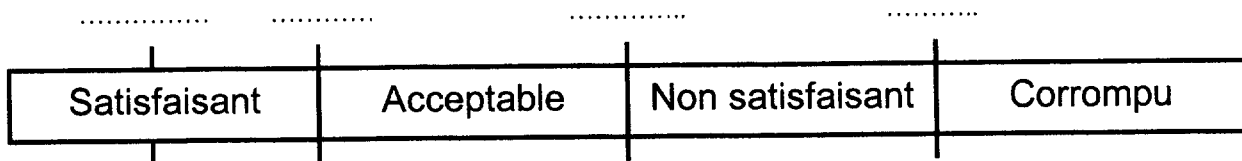
On définit plusieurs grandeurs seuils (voir ci-dessus), tenant compte des incertitudes des méthodes à partir du « critère » donné au JORF :

- $m' = 3$ m (milieux solides) ou 10 m (milieux liquides).
- $M = 10$ m (milieux solides) ou 30 m (milieux liquides).
- $S = 10^3$ m.

Germes aérobies mésophiles :



Coliformes totaux :



Plan à 2 classes :

Coliformes thermotolérants :

