



SERVICES CULTURE ÉDITIONS  
RESSOURCES POUR  
L'ÉDUCATION NATIONALE

**Ce document a été numérisé par le CRDP de Bordeaux pour la  
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel**

**session 2011**

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR  
BIOANALYSES ET CONTRÔLES**

**ÉPREUVE E3 – UNITÉ U32  
MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE**

SESSION 2011

\_\_\_\_\_  
Durée : 3 heures  
Coefficient : 3  
\_\_\_\_\_

**Calculatrice non autorisée.**

**Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.  
Le sujet se compose de 9 pages, numérotées de 1/9 à 9/9.**

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2011
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT	Page : 1/9

# LA GESTION DE L'HYGIÈNE DANS LA FILIÈRE VIANDE

L'hygiène des procédés est un impératif pour assurer la qualité sanitaire des produits alimentaires. C'est pourquoi la France impose la mise en place d'un plan de maîtrise sanitaire qui comprend le suivi du guide de bonnes pratiques d'hygiène (GBPH) conçu par chaque secteur et selon la taille de l'entreprise, l'élaboration d'un plan HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point).

Dans le plan HACCP d'une grande entreprise de découpe et de transformation de carcasses de viande, les phases de nettoyage et de désinfection sont considérées comme des CCP (Critical Control Point). Les procédures de nettoyage/désinfection avant d'être appliquées doivent être validées et leur efficacité contrôlée. En ce qui concerne l'efficacité des désinfectants, cette dernière est limitée par la présence de microorganismes sous une forme particulière : les biofilms.

## **1 - Formation et physiologie des biofilms (24,5 points)**

Un biofilm est une communauté microbienne incluse dans une matrice elle-même constituée de polymères organiques pour l'essentiel d'origine cellulaire.

Les 5 étapes de la cinétique de formation d'un biofilm sont présentées sur le **document 1**.

### **1.1 - Éléments structuraux à l'origine de la formation des biofilms (6,5 points)**

Certaines étapes de la formation des biofilms mettent en jeu des éléments de la structure des cellules microbiennes.

#### **1.1.1 - L'étape de transport (document 1, étape 1).**

**1.1.1.1** - Le transport de certaines bactéries retrouvées dans les biofilms peut être facilité par la présence d'une structure responsable de la mobilité. Citer cet élément et en préciser la nature biochimique.

**1.1.1.2** - Décrire une technique permettant de mettre en évidence la présence éventuelle d'une telle structure chez les bactéries.

**1.1.1.3** - Citer trois genres bactériens donnant des résultats positifs à ce même test.

#### **1.1.2 - Les étapes d'adsorption et d'adhésion (document 1, étapes 2 et 3).**

Les structures antigéniques cellulaires et la surface inerte interagissent. À ce stade, le processus est réversible. Citer les différents types de liaisons mises en jeu et justifier la réversibilité du processus.

#### **1.1.3 - Étape de colonisation (document 1, étape 4).**

La colonisation de la surface inerte se fait, entre autres, grâce à la synthèse d'exopolysaccharides.

Expliquer l'avantage essentiel que retirent les microorganismes à être inclus dans une telle matrice organique.

### **1.2 - L'influence de la forme physiologique dans la formation des biofilms (13,5 points)**

L'état physiologique des microorganismes, en particulier les formes sporulées des *Bacillus*, est aussi un paramètre important dans l'adhésion.

**1.2.1** - Le **document 2** montre la structure de la forme sporulée pour deux espèces de *Bacillus*.

**1.2.1.1** - Reporter sur la copie les numéros 1 à 4 du **document 2** et donner les légendes correspondantes.

**1.2.1.2** - Pourquoi les spores posent-elles des problèmes lors de l'application des procédures de nettoyage/désinfection ?

**1.2.2** - Pour évaluer les forces d'adhésion des formes sporulées, des tests d'arrachement vertical de spores sur supports « inox » sont réalisés. Le **document 3** montre l'organigramme du protocole du test et le **document 4** représente les résultats obtenus dans les mêmes conditions pour *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*.

**1.2.2.1** - Justifier l'emploi des supports « inox ».

**1.2.2.2** - Quel est l'intérêt d'une supplémentation de la gélose nutritive avec le TTC (TriphenylTetrazoliumChloride).

**1.2.2.3** - Analyser les deux figures du **document 4**.

**1.2.2.4** - À partir des informations du **document 3**, établir la formule exprimant le pourcentage de spores arrachées (décrochées) par boîte.

**1.2.2.5** - Comparer la capacité d'adhésion des deux espèces de *Bacillus* et émettre une hypothèse quant à la structure qui pourrait en être responsable.

**1.2.3** - Indiquer le paramètre sur lequel il est possible d'agir au niveau de l'étape de nettoyage pour décrocher les spores adhérentes.

### **1.3 - La physiologie des biofilms (4,5 points)**

La colonisation (**document 1, étape 4**) se poursuit par l'épaississement du biofilm. Cette augmentation de volume est due au phénomène de division microbienne et à la synthèse massive d'exopolymères organiques.

À ce stade, la communauté microbienne qui peuple le biofilm mature montre une certaine hétérogénéité, notamment aux niveaux morphologique, physiologique et métabolique.

La stratification observable au sein d'un biofilm mature est présentée sur le **document 5**.

**1.3.1** - Pourquoi des bactéries telles que *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, ou certains *Bacillus* se situent-elles dans la strate supérieure du biofilm ?

**1.3.2** - Dans les strates profondes du biofilm, on assiste à la miniaturisation des cellules et à l'apparition de microcolonies. Justifier.

**1.3.3** - Le métabolisme adopté par les microorganismes dans la partie profonde du biofilm est à l'origine d'une corrosion des surfaces métalliques pouvant servir de support. Expliquer ce phénomène.

## **2 - Du nettoyage à la désinfection (27,5 points)**

Parmi les installations de l'entreprise de découpe et de transformation des carcasses, certaines sont peu accessibles ou démontables ce qui implique un nettoyage en place (NEP).

**2.1** - Expliquer en quoi le nettoyage est une étape importante avant la désinfection. Proposer un protocole opératoire simple dans le cadre d'un nettoyage en place (NEP) permettant d'éliminer les substances organiques d'une part puis les substances minérales d'autre part.

**2.2** - Dans le fonctionnement de cette entreprise, le nettoyage n'est pas systématiquement suivi par une désinfection.

**2.2.1** - Définir le terme désinfection.

**2.2.2** - Les deux tableaux du **document 6** présentent des données concernant les associations possibles des désinfectants et leur activité respective sur les différents microorganismes.

**2.2.2.1** - Indiquer la signification des termes synergie et antagonisme.

**2.2.2.2** - Commenter le choix d'une association, dans un premier cas, entre le chlorhexidine et l'alcool à 70° dans une solution désinfectante et, dans un deuxième cas, entre le chlorhexidine et un ammonium quaternaire.

**2.2.3** - Après avoir fixé les niveaux de risque associés à chaque zone de travail, des auto-contrôles microbiologiques par la méthode des boîtes de contact sont effectués deux fois par semaine après l'étape de désinfection. Ils sont réalisés en suivant une procédure mettant en œuvre la norme ISO 18593 (2004) qui préconise l'application de boîtes de contact via un applicateur de boîte.

**2.2.3.1** - Expliciter pourquoi la gélose présente dans la boîte de contact doit être obligatoirement bombée et sèche ?

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2011
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT	Page : 3/9

- 2.2.3.2 - Proposer une supplémentation du milieu utilisé dans les boîtes contact, afin que la revivification des microorganismes prélevés après désinfection soit totale.
- 2.2.3.3 - Un exemple d'applicateur est présenté dans le **document 7**. Indiquer sur quel critère de performance de la méthode influe l'utilisation d'un tel applicateur. Expliquer la réponse.
- 2.2.3.4 - Le **document 8** présente une série de résultats. Le **document 9** est un guide d'interprétation. Analyser les résultats et conclure.

2.3 - Les étapes de nettoyage et de désinfection étant des CCP, le responsable qualité souhaite mettre en place une méthode de contrôle systématique de ces opérations. Son choix se porte sur l'ATPmétrie.

- 2.3.1 - Sur quel principe repose la méthode ATPmétrique ?
- 2.3.2 - Citer les avantages de cette méthode de contrôle. Quel en est le principal inconvénient ?
- 2.3.3 - Des essais employant l'ATPmétrie ont été menés parallèlement à des contrôles microbiologiques sur boîtes de contact après nettoyage mais également après désinfection.  
L'analyse des résultats a abouti à l'établissement d'une valeur seuil en ATPmétrie au-dessous de laquelle le nettoyage est considéré comme satisfaisant, par contre les résultats des mesures après désinfection n'étaient pas exploitables.
  - 2.3.3.1 - À l'aide du principe de la méthode, proposer une justification aux mauvais résultats obtenus après désinfection.
  - 2.3.3.2 - Justifier l'intérêt d'employer l'ATPmétrie pour contrôler (uniquement) les nettoyages.

### 3 - Échec de la procédure de nettoyage et de désinfection (8 points)

Malgré ce contexte sécuritaire, les contaminations accidentelles par les bactéries en général et *Bacillus cereus* en particulier ne peuvent être absolument exclues. De telles contaminations peuvent avoir deux types de conséquences :

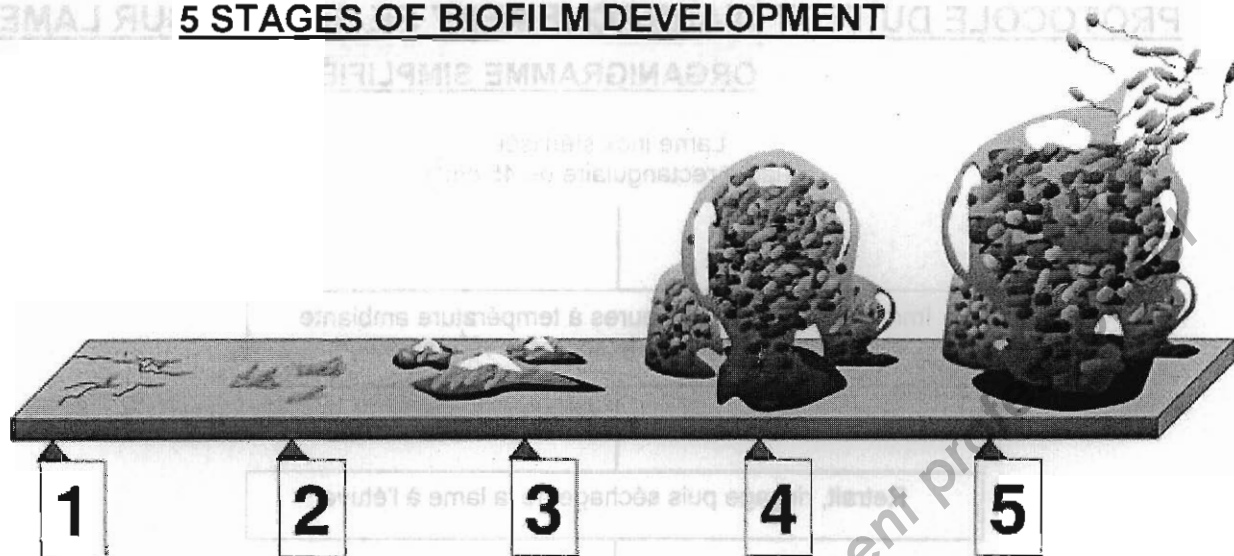
- une altération de la qualité marchande,
- une altération de la qualité sanitaire.

- 3.1 - Expliquer en quoi les activités protéase et lécithinase, par ailleurs utilisées pour l'identification phénotypique de *Bacillus cereus*, peuvent être responsables de l'altération de la qualité marchande de la viande.
- 3.2 - *Bacillus cereus* après germination dans la matrice alimentaire produit deux types de toxines capables de générer un syndrome gastro-entérique sévère.
  - 3.2.1 - Quels sont les principaux symptômes constituant le syndrome de gastro-entérite ?
  - 3.2.2 - Citer et donner les propriétés du type de toxines responsables de ces symptômes.
- 3.3 - Depuis 1987, les cas de TIAC font l'objet d'une déclaration auprès des services de la DDASS et de la DSV. Le **document 10** présente le nombre de cas de TIAC déclarés sur la période de 1987 à 2000.
  - 3.3.1 - Quelle est la signification des sigles DDASS et DSV ?
  - 3.3.2 - Proposer deux hypothèses permettant d'expliquer que, malgré des procédures de nettoyage/désinfection optimisées et contrôlées, le nombre de cas a tendance à augmenter.
- 3.4 - Il est établi que *Bacillus cereus* est un pathogène opportuniste et que les cas de TIAC provoqués par *Bacillus cereus* ont une incidence faible : environ 4,6 %.
  - 3.4.1 - Qu'est-ce qu'un pathogène opportuniste ?
  - 3.4.2 - Proposer deux exemples de microorganismes responsables de TIAC et ayant une incidence plus élevée en France.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2011
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT	Page : 4/9

## DOCUMENT 1 :

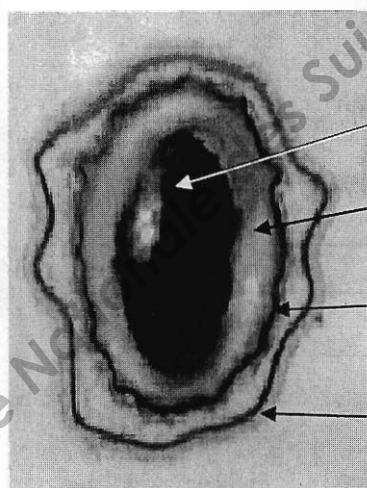
### 5 STAGES OF BIOFILM DEVELOPMENT



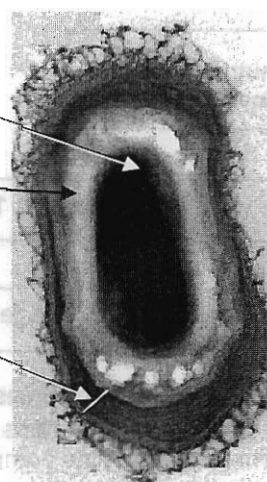
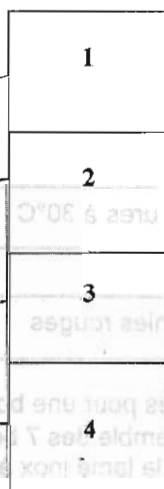
1	Transport des bactéries jusqu'à une surface inerte (acier inoxydable...)
2	Adsorption spontanée à la surface inerte
3	Adhésion réversible des microorganismes grâce au début de la synthèse d'exopolymères divers
4	Colonisation puis maturation du biofilm grâce à la synthèse massive d'exopolymères
5	Décrochement et essaimage

## DOCUMENT 2 :

### MICROGRAPHIES DE SPORES DE BACILLUS



*Bacillus cereus*

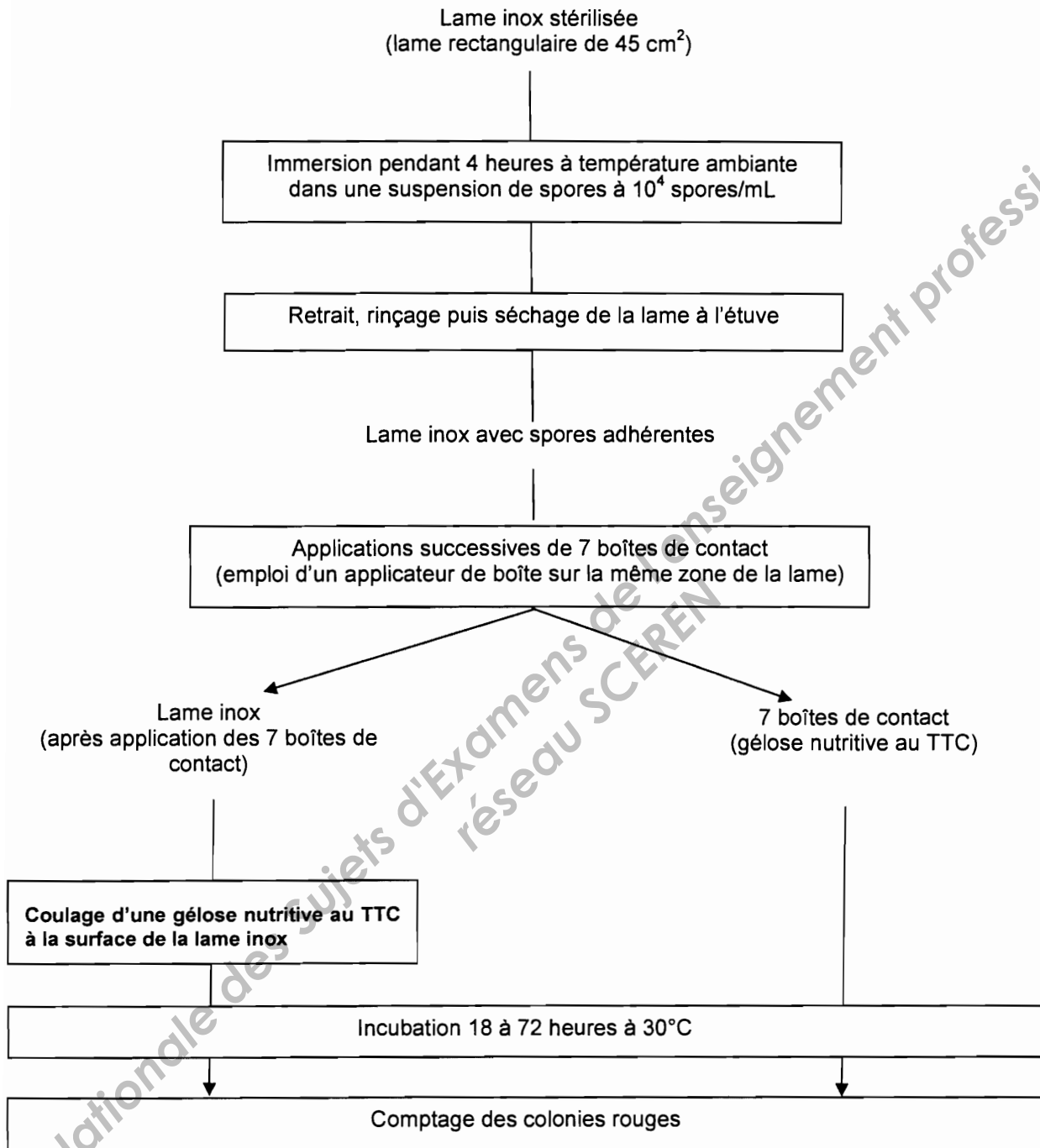


*Bacillus subtilis*

### DOCUMENT 3 :

## PROTOCOLE DU TEST D'ARRACHEMENT DE SPORES SUR LAME INOX

### ORGANIGRAMME SIMPLIFIÉ



A = est le nombre de colonies comptées pour une boîte contact.

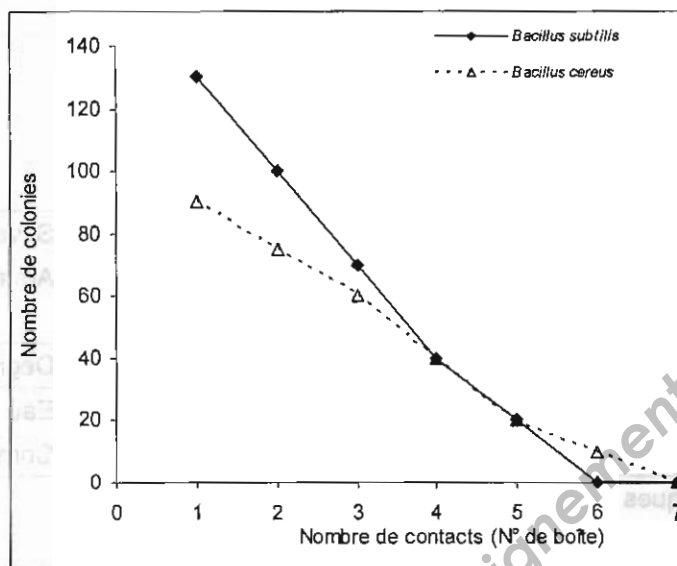
B =  $\Sigma$  des colonies comptées sur l'ensemble des 7 boîtes contact.

C = nombre de colonies comptées sur la lame inox à la fin du test.

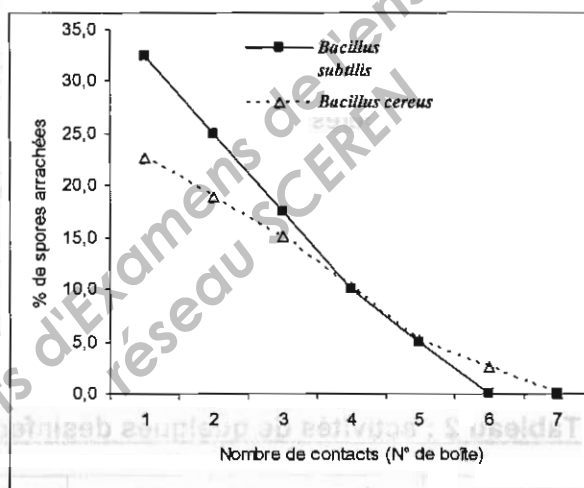
## DOCUMENT 4 :

### CINÉTIQUES D'ARRACHEMENT DES SPORES SUR LAMES INOX

**FIG.1**

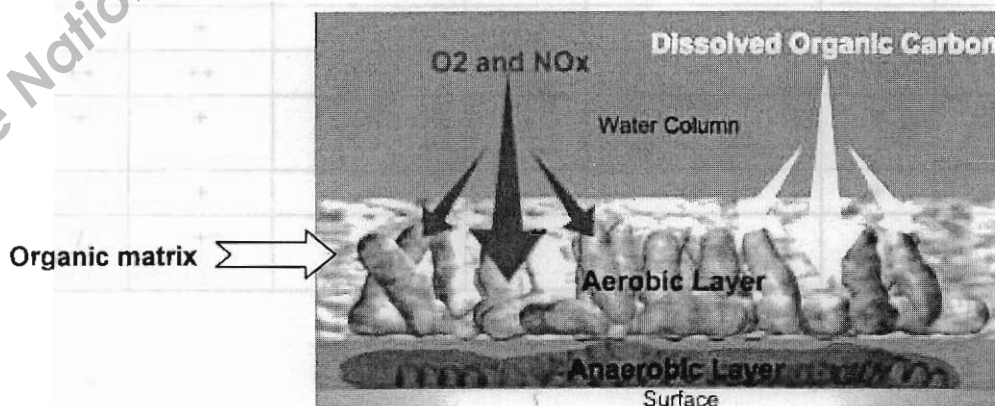


**FIG.2**



## DOCUMENT 5 :

### STRATIFICATION DES BIOFILMS





## DOCUMENT 6 :

**Tableau 1 : antagonisme et synergie de quelques désinfectants**

Famille		Antagonisme	Synergie
Halogènes	Composés chlorés	Matières organiques Thiosulfates Sulfures Acides forts	
	Composés iodés	Matières organiques Composés mercuriels Thiosulfates de sodium	Savon Ammoniums quaternaires
Aldéhydes		Ammoniaque	Degré d'hygrométrie > 50 %
Alcools		Matières organiques	Eau Composés iodés
Tensioactifs	anioniques	Matières organiques Ammoniums quaternaires	
	Cationiques (ammoniums quaternaires)	Matières organiques Calcium, magnésium, aluminium	
	amphotères	Tensioactifs anioniques	Crésol
Dérivés des métaux	Mercure	Matières organiques	
Biguanides	Chlorhexidine	Matières organiques Composés soufrés	Ammoniums quaternaires Amphotères
	Hexamidine	Ions phosphates	Alcools, halogènes Excipients mouillants

**Tableau 2 : activités de quelques désinfectants**

Désinfectants	Bactéries		Mycobactéries	Spores	Moisissures	Phages	Virus
	Gram +	Gram -					
Acide peracétique	+++	+++	\	++	++	++	++
Alcools	++	++	\	-	++	++	+
Chlorhexidine	+++	++	+	-	+	+	-
glutaraldéhyde	+++	+++	++	+	+++	++	++
Ammoniums quaternaires	+++	+	-	-	+	+	+
Amphotères	+++	+	\	-	+	+	-
Dérivés mercuriels	++	++	-	-	+	+	\

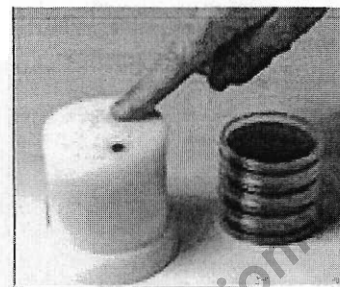
( \ ) : activité non testée.

## DOCUMENT 7 : EXTRAIT D'UNE PUBLICITÉ POUR UN APPLICATEUR DE BOÎTES CONTACT (Applicateur de boîte contact BIOCONTACT-99)

- Conforme aux recommandations de l'annexe C de l'ISO 14698-1 et la norme NF V08-037.
- Applique une force constante de 25 g/cm<sup>2</sup> (soit 600 g pour une boîte de 55 mm) pendant 10 secondes.

La poussée exercée par l'opérateur sur le corps de l'applicateur est transmise à un piston par l'intermédiaire d'un ressort calibré travaillant à la compression et limitant la force d'appui à 600 grammes et ce quelque soit la pression d'appui exercée par l'opérateur sur l'applicateur.

- Le décompte du temps d'application n'est activé que si la jupe du corps de l'applicateur est en contact avec la surface à contrôler (position du corps de l'appareil confirmant que le milieu gélosé est effectivement en contact avec la surface à contrôler à la pression de 600 grammes). Alimentation par pile.



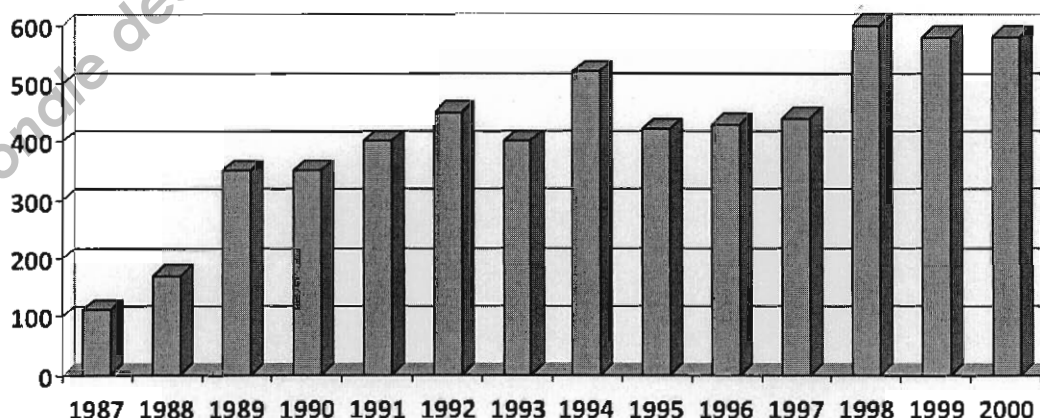
## DOCUMENT 8 : RÉSULTATS DE L'ANALYSE DE PLUSIEURS ZONES DE DÉCOUPE DE VIANDES

N° de la zone contrôlée	1	2	3	4	5
Niveau de risque	2	2	3	2	2
Surface comptée sur la boîte en cm <sup>2</sup>	25	25	25	25	25
Nombre moyen de colonies par boîte	150	< 15	40	200	25

## DOCUMENT 9 : NIVEAU DE RISQUE ET ÉTAT SANITAIRE DES SURFACES

Classification des zones à risque : niveau de risque	Nombre de colonies par cm <sup>2</sup>
Très élevé : 4	< 5
Élevé : 3	< 5
Moyen : 2	< 50
Faible ou négligeable : 1	< 125

## DOCUMENT 10 : DÉCLARATION DES CAS DE TIAC ENTRE 1987 ET 2000



■ Nombre de cas de TIAC toutes causes confondues