



Ce document a été mis en ligne par l'organisme [FormaV®](#)

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :

www.formav.co/explorer

CORRIGE

Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.

ÉPREUVE E3. UNITÉ U32.MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE**ANALYSES ET CONTRÔLES DES SALAISONS****Éléments de corrigé****1- Contrôle d'hygiène dans l'atelier de fabrication****1.1- Contrôle de l'aérobiocontamination des locaux (document 2)**

1.1.1- Donner le principe d'un biocollecteur.

Les biocollecteurs sont des appareils permettant de dénombrer les microorganismes par unité de volume d'air pendant un temps connu.

L'air est aspiré, sous un volume connu et selon un débit connu, et les particules biologiques sont projetées sur un support nutritif.

Connaissant le volume d'air prélevé, on en déduit le nombre de particules donnant naissance à des colonies par mètre cube d'air (pnc.m^3).

1.1.2- Des prélèvements ont été réalisés dans différents lieux de la production.

Donner les résultats des prélèvements en pnc/m^3 (particules donnant naissance à colonies).

Justifier le calcul.

Conclure.

	Zone de réception de la chambre froide soit zone 2	Zone de tranchage soit zone 3
Conditions de prélèvements	Débit : 60 L/min Temps : 4 min	Débit : 100 L/min Temps : 8 min
Résultats : nombre de colonies sur le milieu gélosé	33	22
Résultats des prélèvements en pnc/m^3	137	27

$$\text{résultats des prélèvements en } \text{pnc/m}^3 = \frac{\text{nombre de colonies}}{\text{débit (L/min)} \times \text{temps (min)}} \times 1000$$

Dans les zones à risque élevées de contamination soient les zones 2 et 3, le nombre de microorganismes trouvés lors des prélèvements est inférieur aux critères :

- avec **137 pnc/m^3** c'est-à-dire moins de 350 microorganismes/ m^3 dans la **zone 2**, la **chambre froide répond aux normes** ;
- avec **27 pnc/m^3** c'est-à-dire moins de 35 microorganismes/ m^3 dans la **zone 3**, la **pièce où a lieu le tranchage du salami répond aux normes**.

1.2- Contrôle de l'eau de lavage des boyaux

Les boyaux utilisés lors de l'embossage sont lavés et l'eau utilisée pour le lavage est analysée. Les coliformes et des coliformes thermotolérants sont recherchés et dénombrés par la technique de filtration sur membrane.

1.2.1- Expliquer l'intérêt de cette technique pour l'analyse de l'eau.

L'eau est peu contaminée. On peut, par la technique de filtration, analyser un grand volume d'eau et au moins les 100 mL définis dans les critères.

1.2.2- Comment différencie-t-on pratiquement les deux types de coliformes ? Quelle indication apporte la présence de coliformes thermotolérants dans l'eau ?

Les deux types de coliformes se différencient par la température d'incubation qui est de 37°C pour la recherche des coliformes et de 44°C pour la recherche des coliformes thermotolérants.

*Les coliformes thermotolérants sont les **indicateurs d'une contamination fécale** récente.*

1.2.3- On utilise pour cette recherche la gélose au TTC et Tergitol 7. La fiche technique du milieu est donnée dans le **document 3**. Expliquer le rôle des constituants soulignés du milieu.

Peptones : source de macroéléments C,N,P,S en particulier source d'N

Extrait de viande : source de macroéléments

Lactose : source de carbone et d'énergie et caractère de différenciation des coliformes

Bleu de bromothymol : indicateur de pH

Tergitol 7 : inhibiteur de la croissance des bactéries Gram +, limite l'envahissement par les Proteus

TTC : indicateur d'oxydoréduction

1.2.4- Donner l'aspect des colonies de coliformes.

Acidification du milieu par fermentation du lactose et virage au jaune du BBT

Colonies jaunes à rouge en fonction du degré de réduction du TTC (la plupart des coliformes donne des colonies jaunes car TTC –).

1.2.5- Le nombre de colonies caractéristiques est de 30 pour 100 mL d'eau. Conclure.

Ceci signifie qu'il y a 30 UFC de coliformes pour 100 mL d'eau utilisée pour le lavage des boyaux alors que la norme parle d'absence de coliforme. L'eau est donc jugée non satisfaisante.

1.3- Contrôle des couteaux trancheurs

Ces couteaux sont utilisés essentiellement pour la découpe de la viande de porc lors de la préparation du salami avant emballage sous vide. Différentes analyses sont effectuées sur ce matériel :

- dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile (FAM) et des coliformes
- recherche des *Listeria*.

1.3.1- L'analyse de la FAM et des coliformes est présentée dans le **document 4**.

1.3.1.1- Donner l'intérêt de l'utilisation du neutralisant.

Le neutralisant permet d'inhiber le désinfectant. Celui-ci ne pourra pas détruire les bactéries initialement présentes dans le produit. Celles-ci pourront alors être dénombrées.

1.3.1.2- Etablir la formule littérale du calcul utilisé pour obtenir les résultats présentés dans le tableau du **document 4** (soit le nombre d'UFC/ cm² à partir du nombre de colonies dénombrées sur les boîtes).

$$N = \frac{\text{nombre de colonies} \times \text{volume d'eau peptonée et de neutralisant (mL)}}{\text{Surface essuyée par la chiffonnette (cm}^2\text{)} \times \text{dilution} \times \text{volume de l'inoculum (mL)}}$$

1.3.1.3- Conclure.

*On observe une faible pollution globale (inférieur au critère : 0,2 microorganismes / cm² dans la zone de risque 3 (voir **document 2**) et l'absence de contamination fécale donc ces résultats sont satisfaisants.*

1.3.2- Recherche des *Listeria*

1.3.2.1- *Listeria* se développe dans des conditions physicochimiques particulières (température, pH et Aw). Expliquer pourquoi cette bactérie est redoutée dans les salaisons.

Les salaisons sont conservées à température basse : Listeria est psychrotrophe donc développement possible.

L'AW est limité dans le salami et la concentration en sel est élevée : Listeria est osmophile et peut se développer dans ce type de produit.

Le salami est un produit de fermentation donc pH acide : Listeria se développe dans une gamme large de pH (comprise en 5 et 9,6) et peut donc survivre dans le salami.

1.3.2.2- Préciser en les justifiant les trois grandes étapes de la recherche de *Listeria* en analyse de routine.

- Etape d'enrichissement dans un bouillon de Fraser qui permet d'augmenter les proportions de *Listeria* susceptibles d'être présentes dans le salami.
- Isolement sur des milieux sélectifs qui permet de différencier le genre *Listeria* par sa résistance aux inhibiteurs et par les caractères morphologiques des colonies.
- Identification de l'espèce *Listeria monocytogenes* grâce aux caractères biochimiques (ensemencement d'une galerie api *Listeria*). Autres modes de détection (biologie moléculaire et immunoenzymatique) possibles.

1.3.2.3- L'identification est généralement complétée par un sérotypage et un lysotypage. Définir ces termes sérotypage et lysotypage.

Sérotypage : détermination des caractères antigéniques (étude épidémiologique)

Lysotypage : méthode d'identification de souches bactériennes basée sur leur sensibilité à une série de bactériophages

Cette recherche permet de réaliser des analyses épidémiologiques c'est-à-dire identifier l'aliment responsable d'une épidémie de listériose.

1.3.3- L'étude a montré la persistance de niche à *Listeria monocytogenes* sur les couteaux trancheurs. *Listeria monocytogenes* est une bactérie saprophyte responsable de la listériose humaine : toxi-infection d'origine alimentaire (TIA) touchant, à l'intérieur d'une population, principalement des groupes d'individus à risques :

- les femmes enceintes,
- les individus atteints de cancer ou d'infections virales,
- les nourrissons et les personnes âgées.

1.3.3.1- Définir le terme TIA.

TIA : toxi infection alimentaire : ensemble de dysfonctionnements de l'organisme résultant de l'ingestion d'un aliment contaminé par des microorganisme pathogènes éventuellement sécréter une toxine.

1.3.3.2- Comment peut-on qualifier la pathogénécité de *Listeria monocytogenes* ? Justifier.

C'est une bactérie pathogène opportuniste qui peut devenir pathogène dans certaines circonstances comme l'affaiblissement du système immunitaire. Certaines souches très invasives se comportent comme des pathogènes

1.3.3.3- Donner et définir le mécanisme physiopathologique de *Listeria monocytogenes*.

- *Listeria* se caractérise par son pouvoir invasif.
- Les *Listeria* présentes dans la lumière de l'intestin pénètrent dans les macrophages et les monocytes à partir desquels elles peuvent envahir l'organisme.
Elles sont retrouvées dans des vésicules dont elles sont libérées par l'action de la listériolysine.

1.3.4-

1.3.4.1- Les candidats doivent faire une synthèse en expliquant la formation de biofilm et les éléments structuraux impliqués.

Adhésion au support : pili d'adhésion ou fimbriae (protéique avec à l'extrémité des protéines appelées adhésines).

Production de polymères extracellulaires :

- capsule
 - glycocalyx
 - slime
- de composition essentiellement glucidique

1.3.4.2- détergent : agents « tensio-actifs » qui décollent les protéines des surfaces et qui permettent de déstabiliser les bicouches lipidiques.

désinfectant : agent chimique qui permet d'éliminer ou de tuer les micro-organismes portés par des milieux inertes, action momentanée.

Désorganisation membranaire ou oxydation des protéines ou interaction avec les acides nucléiques.

2. Contrôle du procédé de fabrication

2.1- Contrôle de la viande de porc à la réception et contrôle de l'entreposage de la viande congelée :

2.1.1- La contamination initiale de la viande de porc au cours de l'abattage peut avoir deux origines : flore endogène et flore exogène.

Définir ce qu'on appelle flore endogène et flore exogène.

Flore endogène : Les microorganismes contaminants proviennent dans ce cas, de l'organisme à partir duquel est produit l'aliment

Flore exogène : Les microorganismes contaminants proviennent de l'environnement : sol, matériel, air, eau, des manipulateurs

2.1.2- Une analyse des microorganismes aérobies à 30°C de la viande fraîche avant congélation a montré un taux de 2.10^3 UFC de microorganismes aérobies à 30°C par g de viande de porc et un taux de coliformes thermotolérants de 10 UFC par g.

A l'aide du **document 5**, conclure quant à la qualité microbiologique de la viande de porc vis-à-vis de ces critères ?

Le résultat trouvé : 2.10^3 UFC flore aérobie par gramme de viande de porc est inférieur à m donc la viande de porc est jugée satisfaisante en ce qui concerne la flore aérobie après l'abattage.

2.1.3- La viande de porc est ensuite congelée. Quel est l'intérêt de cette étape de congélation ?

Eviter le développement de la flore de contamination.

2.2- Contrôle des additifs

La viande est ensuite préparée, désossée et des additifs alimentaires sont additionnés.

2.2.1- Addition de sel

La teneur en sel du salami est de 2,5 %.

Outre ses conséquences sur le goût, le sel a divers autres effets. Rappeler ces différents effets.

Le sel provoque la perte d'eau par phénomène osmotique.

Il diminue l'activité de l'eau A_w , limite la croissance de certaines bactéries pathogènes et de putréfaction.

2.2.2- Des additifs alimentaires comme les nitrites sont ajoutés à raison de 0,1 g/kg de viande. Donner la raison microbiologique d'ajouter des nitrites aux salaisons.

Les nitrites ont un effet bactériostatique sur les cellules issues de la germination des spores. Ils sont ajoutés dans les produits de charcuterie sous forme de sels de nitrates.

2.3- Contrôle de la fermentation

Les ferments de maturation pour saucisson sont composés de bactéries lactiques (*Lactobacillus* et *Pediococcus*) et de staphylocoques ou de microcoques pour la flore interne ainsi que de levures et de moisissures pour la flore de surface.

2.3.1- Commenter les courbes fournies dans le **document 6** et en déduire le rôle du ferment de maturation dans la fabrication du salami.

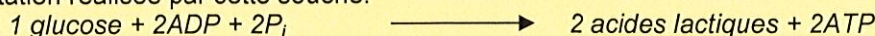
Le ferment est constitué de la flore lactique et de Microcoques.

Au fur et à mesure que la flore lactique se développe, le pH du produit diminue et joue un rôle inhibiteur de la flore de contamination (le pH est en dessous de 3,5 c'est-à-dire après 4 jours à l'étuvage) : le taux de coliformes diminue, celui des streptocoques reste stable. Les moisissures acidophiles commencent à se développer après 4 jours.

2.3.2- Rappeler les caractères morphologiques et culturels de *Lactobacillus*.

*Les *Lactobacillus* sont des bacilles Gram +, asporulés, catalase -, fermentant le glucose en produisant de l'acide lactique.*

2.3.3- *Lactobacillus plantarum* est une bactérie homofermentaire. Ecrire l'équation bilan de la fermentation réalisée par cette souche.



2.3.4- Une méthode de biologie moléculaire, l'électrophorèse en champ pulsé, combinée aux enzymes de restriction à sites rares (R-ECP), a été utilisée afin d'identifier spécifiquement les souches inoculées comme ferments dans le salami (*Staphylococcus*, *Lactobacillus*) (voir **document 7**).

2.3.4.1- Justifier l'utilisation du milieu MRS en précisant ses conditions d'incubation

MRS est un milieu qui va favoriser le développement des Lactobacillus.

Ce milieu doit être incubé à 30°C et en anaérobiose partielle (avec CO₂).

2.3.4.2- Commenter les résultats obtenus et conclure.

La comparaison des profils électrophorétiques des populations bactériennes récupérées en cours de fermentation et des souches de référence permet de conclure sur l'implantation des souches du ferment.

La souche 1 de Lactobacillus plantarum est absente, laissant la place à la flore initialement présente dans la mûlée (T0).

La souche 2 de Staphylococcus xylosus s'est implantée.

2.4- Contrôle du produit fini

Une des analyses du produit fini (salami tranché et emballé) consiste à dénombrer les coliformes thermotolérants. Ce dénombrement est réalisé par une méthode alternative : l'ensemencement automatique en spirale sur gélose VRBL dont le protocole est présenté **document 8**.

2.4.1- Donner le nombre de coliformes thermotolérants / g de produit. Justifier les calculs.

$$N = \frac{(n_1 + n_2) \times V \text{ en mL}}{V_{\text{tot en mL}} \times m}$$

m : masse pesée de salami

V : volume total de la suspension mère

n₁ et n₂ : nombre de colonies comptées dans deux secteurs diamétralement opposés pour en avoir au moins 20 par secteur, en partant des zones les plus externes

V_{tot} : volume correspondant à la totalité des deux secteurs dans lesquels les colonies ont été dénombrées.

N : quantité de

$$= \frac{(21 + 25) \times \frac{250}{25}}{0,0123} = 3,7 \cdot 10^4 \text{ coliformes thermotolérants / g}$$

2.4.2- Dans le cadre d'un contrôle selon un plan à trois classe, quatre autres échantillons ont été analysés.

Les résultats sont les suivants (en UFC/g) :

E1	E2	E3	E4
1,0.10 ²	2,3.10 ³	3,3.10 ³	1,8.10 ²

Conclure quant à la qualité bactériologique du salami vis-à-vis de l'analyse de ce lot.

Un des 5 échantillons est supérieur à M (1.10³ UFC/g) donc le lot est non satisfaisant.

3. Validation de la démarche HACCP

3.1- Sur le **document 1**, localiser les points critiques en donnant les microorganismes impliqués.

- Coliformes dans l'eau de lavage des boyaux
- Listeria dans l'appareil de tranchage
- Lactobacillus plantarum ne s'implante pas

3.2- Proposer ce qui pourrait être mis en œuvre dans la démarche HACCP pour améliorer la qualité microbiologique du produit fini.

- Coliformes dans l'eau de lavage des boyaux : pose d'un filtre ou traitement de l'eau
- Listeria dans l'appareil de tranchage : désinfection des couteaux trancheur
- Lactobacillus plantarum ne s'implante pas : achat d'un nouveau ferment.

ÉPREUVE E3. UNITÉ U32.MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE**ANALYSES ET CONTRÔLES LES SALAISONS****BARÈME / 60 points****1 - Contrôle d'hygiène dans l'atelier de fabrication (34 points)****1.1 - Contrôle de l'aérobiocontamination des locaux (4 points)**

1.1.1 -

2 points

1.1.2 -

2 points

1.2 - Contrôle de l'eau de lavage des boyaux (7 points)

1.2.1 -

1,5 point

1.2.2 -

1 point

1.2.3 -

2,5 points

1.2.4 -

1 point

1.2.5 -

1 point

1.3 - Contrôle des couteaux trancheurs (23 points)

1.3.1 - (6 points)

1.3.1.1 -

2 points

1.3.1.2 -

2 points

1.3.1.3 -

2 points

1.3.2 - (7,5 points)

1.3.2.1 -

2 points

1.3.2.2 -

3 points

1.3.2.3 -

2,5 points

1.3.3 - (4,5 points)

1.3.3.1 -

1,5 point

1.3.3.2 -

1 point

1.3.3.3 -

2 points

1.3.4 - (5 points)

1.3.4.1 -

2 points

1.3.4.2 -

3 points

2 - Contrôle du procédé de fabrication (20 points)**2.1 - Contrôle de la viande de proc à la réception et
contrôle de l'entreposage de la viande congelée (5 points)**

2.1.1 -

3 points

2.1.2 -

1 point

2.1.3 -

1 point

2.2 - Contrôle des additifs (4 points)

2.2.1 -

3 points

2.2.2 -

1 point

2.3 - Contrôle des couteaux trancheurs (7 points)

2.3.1 -

1 point

2.3.2 -

2 points

2.3.3 -

1 point

2.3.4 - (3 points)

2.3.4.1 -

1 point

2.3.4.2 -

2 points

2.4 - Contrôle du produit fini (4 points)

2.4.1 -

2 points

2.4.2 -

2 points

3 - Validation de la démarche HACCP (6 points)

3.1 -

3 points

3.2 -

3 points