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 consulter tous nos sujets d'annales et corrigés du BTS BioAlc, veuillez visiter :
btsbioalc.fr/annales-sujets-et-corriges

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES

ÉPREUVE E3 – UNITÉ U32
MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2016

_____

Durée : 3 heures
Coefficient : 3

_____

Matériels autorisés :

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique à condition que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Circulaire n°99-186, 16/11/1999).

Document à rendre et à agrafer avec la copie :

- Document 2 ..... page 6/9

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.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

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

Une filière d'un grand groupe européen s'est spécialisée dans la fabrication et la commercialisation des fromages à pâte molle à partir de lait de vache, de brebis et de chèvre.
Cette entreprise reçoit le lait et réalise toutes les étapes de sa transformation en fromage.
La fabrication d'un fromage comporte de nombreuses étapes notamment :

- La sélection et la croissance des ferments utilisés ;
- Le contrôle du lait avant transformation ;
- Le contrôle du produit fini.

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

Le **document 1** représente le diagramme de fabrication du fromage.

1.1 - Croissance et conservation des bactéries lactiques

1.1.1 - *Streptococcus* et *Lactobacillus* sont des bactéries lactiques. Citer trois autres genres de bactéries lactiques.

1.1.2 - Le **document 2** met en correspondance la courbe de croissance d'une souche de bactérie lactique et la production d'acide dans le lait.

1.1.2.1 - Analyser la courbe de croissance.

1.1.2.2 - Définir et calculer les paramètres de la croissance en phase exponentielle.

1.1.2.3 - À partir des **documents 1 et 2,** expliquer le rôle des ferments lactiques dans la fabrication du fromage.

1.1.2.4 - Indiquer deux types de fermentations glucidiques mises en œuvre par les bactéries lactiques. Nommer les produits formés dans chacune des fermentations.

1.1.3 - Proposer deux méthodes de conservation des bactéries lactiques. Préciser pour chacune d'elles les précautions à respecter.

1.1.4 - La fabrication du fromage intègre une étape de salage. Préciser son rôle.

1.2 - Facteurs influençant la culture des bactéries lactiques

1.2.1 - Le **document 3** indique la composition du lait de vache.
Analyser la composition du lait. Indiquer les raisons pour lesquelles les bactéries lactiques peuvent y cultiver.

1.2.2 - La nutrition azotée constitue un facteur limitant de la croissance des bactéries lactiques dans le lait. Aussi, la plupart de ces bactéries possède une protéase de paroi.

1.2.2.1 - Le **document 4** représente deux courbes de croissance de *Streptococcus thermophilus* en présence de substrats azotés dans du lait.
- La **figure a** représente la courbe de croissance type d'une souche « **protéase -** ».
- La **figure b** représente la courbe de croissance d'une souche « **protéase +** ». Comparer les deux courbes. Justifier le tracé particulier de la courbe de la **figure b**.

1.2.2.2 - Lors d'une culture pure de *Streptococcus thermophilus* « **protéase -** », la concentration bactérienne obtenue en phase stationnaire est de $4{,}5.10^{9}$ UFC.mL^{-1} de lait. Dans les mêmes conditions expérimentales, mais en culture mixte en présence d'une souche « **protéase +** », *Lactobacillus delbrueckii*, la biomasse de *Streptococcus thermophilus* en phase stationnaire devient $4{,}3.10^{10}$ UFC.mL^{-1} de lait. Commenter cette évolution de la biomasse de *Streptococcus thermophilus*.

1.2.2.3 - En déduire un critère décisif pris en compte dans le choix des ferments mixtes actuellement utilisés dans la fabrication du fromage.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

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

La traite des vaches, même réalisée dans des conditions d'hygiène conformes, s'accompagne toujours de contaminations par des microorganismes variés ; ceux-ci constituent une flore complexe qui se dissémine facilement et rapidement dans le lait.

2.1 - Action d'agents antibactériens

2.1.1 - La flore exogène constitue la contamination la plus importante du lait.

2.1.1.1 - Définir le terme « flore exogène ». Préciser les origines des microorganismes qui la constituent.

2.1.1.2 - Préciser en conséquence le mode de conservation du lait, imposé au producteur. Justifier la réponse.

2.1.1.3 - Aussitôt après la traite, *Pseudomonas* représente moins de 1 % de la flore totale du lait. Après 4 jours de conservation à 5 °C, il en représente plus de 90 %.

Justifier cette évolution.

2.1.1.4 - Expliquer un effet possible sur le fromage de la présence de Pseudomonas.

2.1.2 - Dans l'entreprise, le lait utilisé pour la fabrication des fromages est préalablement pasteurisé.

2.1.2.1 - Indiquer l'intérêt de la pasteurisation.
Avant la pasteurisation, le pH du lait est contrôlé. Quelles seraient les conséquences de la pasteurisation d'un lait trop acide ?

2.1.2.2 - Après chaque cycle de pasteurisation, l'opérateur effectue un nettoyage - désinfection de l'appareil. Proposer un protocole opératoire complet. Justifier les différentes étapes.

2.2 - Recherche d'antibiotiques dans le lait

2.2.1 - À son arrivée dans l'entreprise, le lait subit différents contrôles. Pour détecter la présence d'antibiotiques, le laboratoire utilise le test « ECLIPSE Farm » dont le mode opératoire est détaillé **document 5**. Ce test repose sur des caractéristiques de *Geobacillus stearothermophilus*, bacille aéroanaérobie facultatif capable de fermenter des glucides.

2.2.1.1 - Les antibiotiques de la classe des β lactamines sont largement utilisés dans le traitement des mammites et autres infections des vaches laitières. Nommer deux β lactamines. Préciser leur mode d'action et leur spectre d'activité.

2.2.1.2 - Après traitement par antibiotiques d'une mammite, le producteur doit jeter, pendant 4 jours le lait produit par la vache soignée. Justifier cette obligation réglementaire.

2.2.2 - Le test présenté dans le **document 5** comprend des contrôles et des essais sur des échantillons de lait.

2.2.2.1 - Indiquer la composition du tube contrôle négatif. Justifier le changement de couleur de ce tube après l'incubation en précisant les phénomènes à l'origine de ce résultat.

2.2.2.2 - Indiquer l'aspect d'un tube contenant du lait provenant d'une vache traitée pour une mammite. Justifier la réponse.

2.2.2.3 - Argumenter le choix de l'incubation à 65 °C.

2.2.3 - Le lait doit être exempt de toute autre substance indésirable notamment l'aflatoxine M1. Préciser l'origine de cette substance dans le lait et la catégorie de toxine à laquelle appartient cette molécule.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel Réseau Canopé

3 - Contrôle microbiologique du produit fini (19 points)

Le laboratoire de microbiologie de l'entreprise effectue de nombreuses analyses afin de contrôler la qualité des fromages. La mise en œuvre de ces tests et leur interprétation sont guidées par des critères de sécurité pour la mise sur le marché et d'hygiène pour le procédé de fabrication.

3.1 - Analyses microbiologiques réalisées par l'entreprise

3.1.1 - Pour chacun des critères, sécurité, hygiène du procédé de fabrication, préciser le type de microorganisme recherché et la conséquence sur le produit dans le cas d'une contamination avérée.

3.1.2 - Sur chaque lot de fromages préparés selon le diagramme de fabrication exposé dans le **document 1**, le laboratoire d'analyses microbiologiques recherche la présence de *Listeria monocytogenes* et effectue un dénombrement d'*Escherichia coli.*

3.1.2.1 - Indiquer la signification de la présence *d'Escherichia coli* dans un fromage au lait pasteurisé.

3.1.2.2 - *Listeria monocytogenes* est recherchée car elle peut être responsable d'intoxication alimentaire. Définir une intoxication alimentaire.

3.1.2.3 - Indiquer et décrire les étapes de l'envahissement de l'épithélium intestinal par *Listeria monocytogenes.*

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

Pour la recherche de *Listeria monocytogenes* dans le fromage, le laboratoire utilise une méthode alternative décrite dans le **document 6**. Cette méthode repose sur un test immuno-enzymatique.

3.2.1 - Nommer et justifier les étapes utilisant successivement le bouillon Fraser ½ puis le bouillon Fraser.

3.2.2 - Préciser la composition du conjugué présent dans le tube 6 de la cartouche. Schématiser l'édifice moléculaire annoté obtenu dans le cône « essais » pour un résultat positif.

3.2.3 - En cas de résultat positif, la méthode préconise une confirmation grâce à la méthode de référence pratiquée sur le bouillon Fraser conservé à basse température. Exposer les étapes nécessaires pour aboutir à la confirmation.

3.2.4 - Citer une autre catégorie de méthode alternative utilisable pour détecter les antigènes de *Listeria monocytogenes* dans le bouillon Fraser.

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

Pour le dénombrement d'*Escherichia coli,* le laboratoire utilise la méthode NF ISO 16649 qui repose sur l'utilisation du milieu chromogène TBX dont la composition est indiquée dans **le document 7**.

3.3.1 - Indiquer les caractères culturaux et biochimiques d'*Escherichia coli* permettant ce dénombrement.

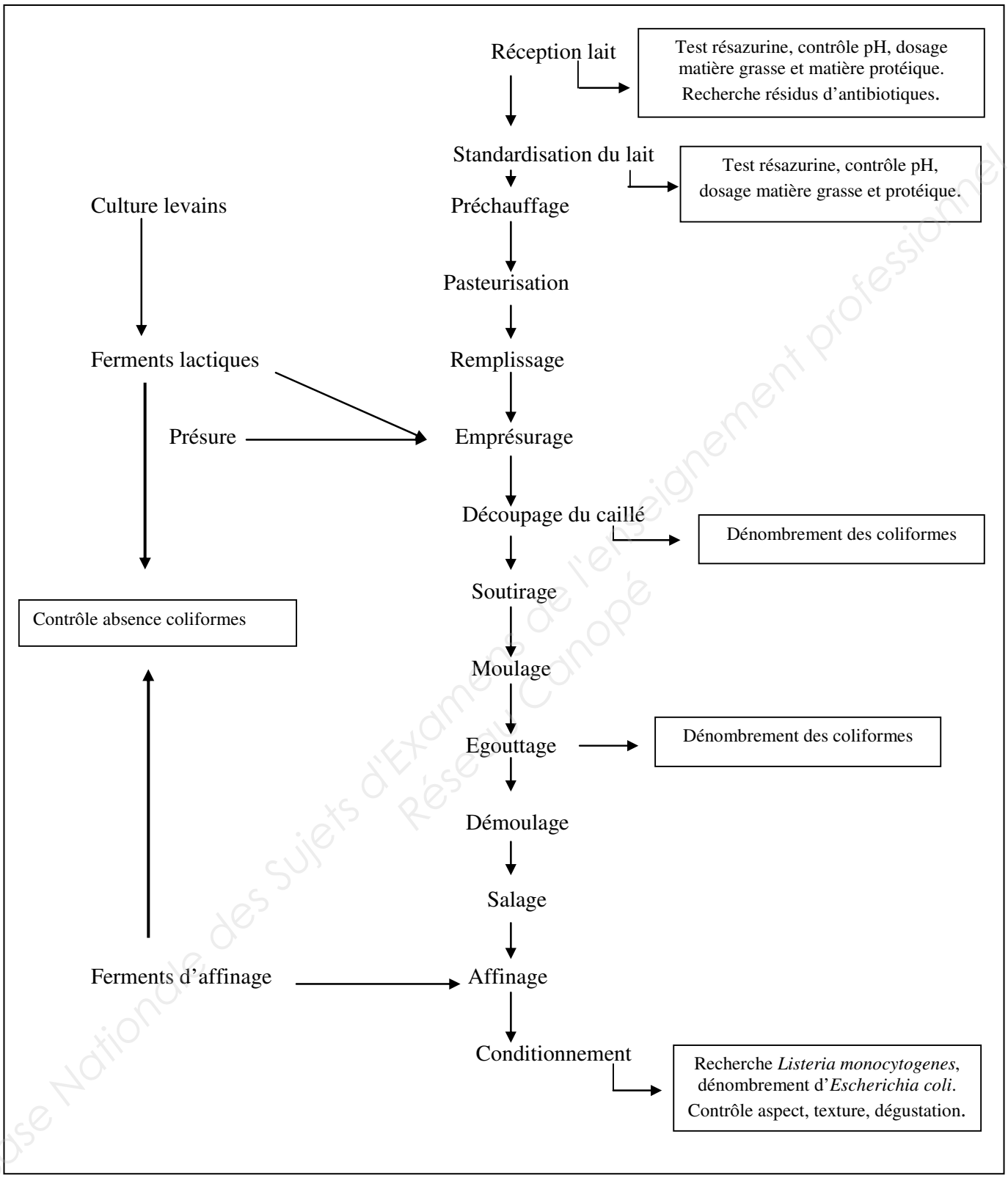
3.3.2 - Le dénombrement réalisé sur le lot de fromages a donné les résultats suivants (en $UFC.g^{-1}$) :

F1	F2	F3	F4	F5
$5{,}0.10^{1}$ $UFC.g^{-1}$	$8{,}5.10^{1}$ $UFC.g^{-1}$	$1{,}2.10^{2}$ $UFC.g^{-1}$	$9{,}4.10^{1}$ $UFC.g^{-1}$	$1{,}4.10^{2}$ $UFC.g^{-1}$

En utilisant le **document 8,** conclure sur la qualité bactériologique du lot. Justifier la réponse.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

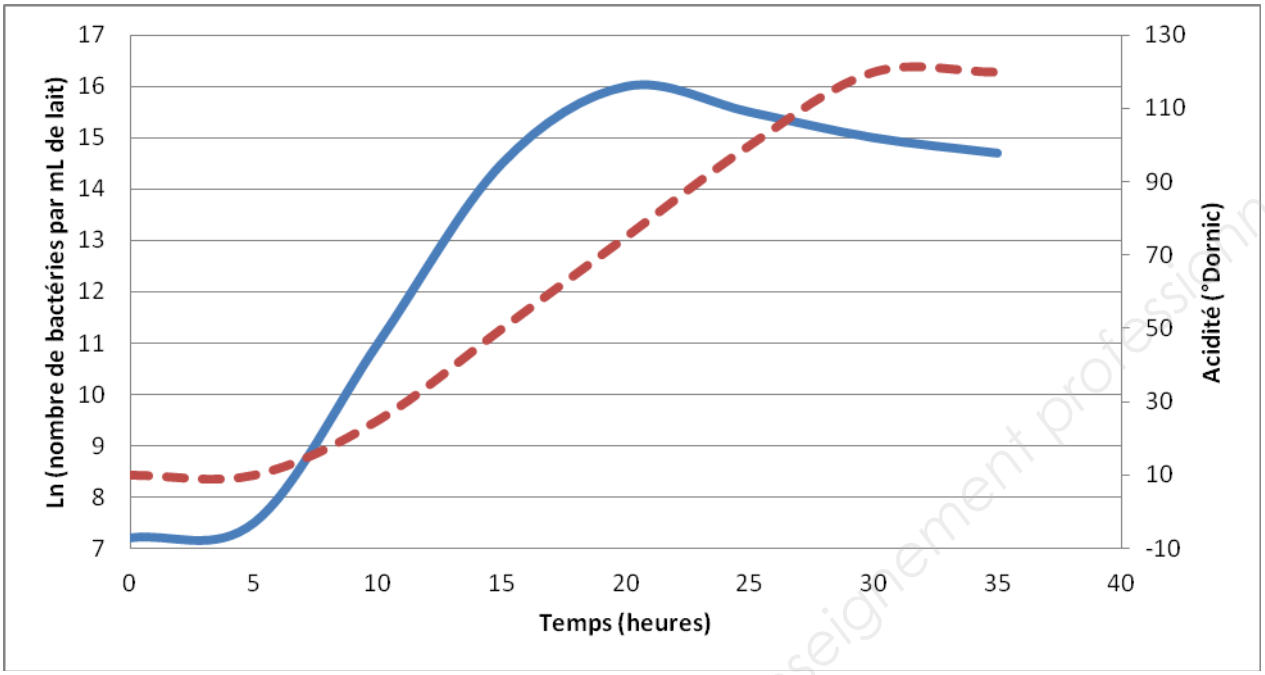
DOCUMENT 1 : DIAGRAMME DE FABRICATION D'UN FROMAGE À PATE MOLLE



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT 2 : CROISSANCE ET PRODUCTION D'ACIDE D'UNE BACTÉRIE LACTIQUE DANS LE LAIT

À RENDRE AVEC LA COPIE



Courbe en trait plein : Courbe de croissance : ln (nombre de bactéries par mL de lait) = f (temps)
Courbe en pointillés : Courbe d'évolution de l'acidité : ° Dornic = f (temps)
Adapté de : www.fao.org

DOCUMENT 3 : PRINCIPAUX COMPOSANTS DU LAIT DE VACHE

Composants	**Concentration en $g.L^{-1}$**
Eau	905
Lactose	49
Lipides	35
Protides : Caséines, protéines solubles (globulines, albumine), substances non protéiques (acides aminés libres, petits peptides)	34 en faible quantité
Acide citrique	2
Acide phosphorique	2,6
Chlorure de sodium	1,7
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	traces

pH : 6,4 à 6,8
(D'après Alais)

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT 4 : CROISSANCE DE SOUCHES DE *Streptococcus thermophilus* DANS LE LAIT

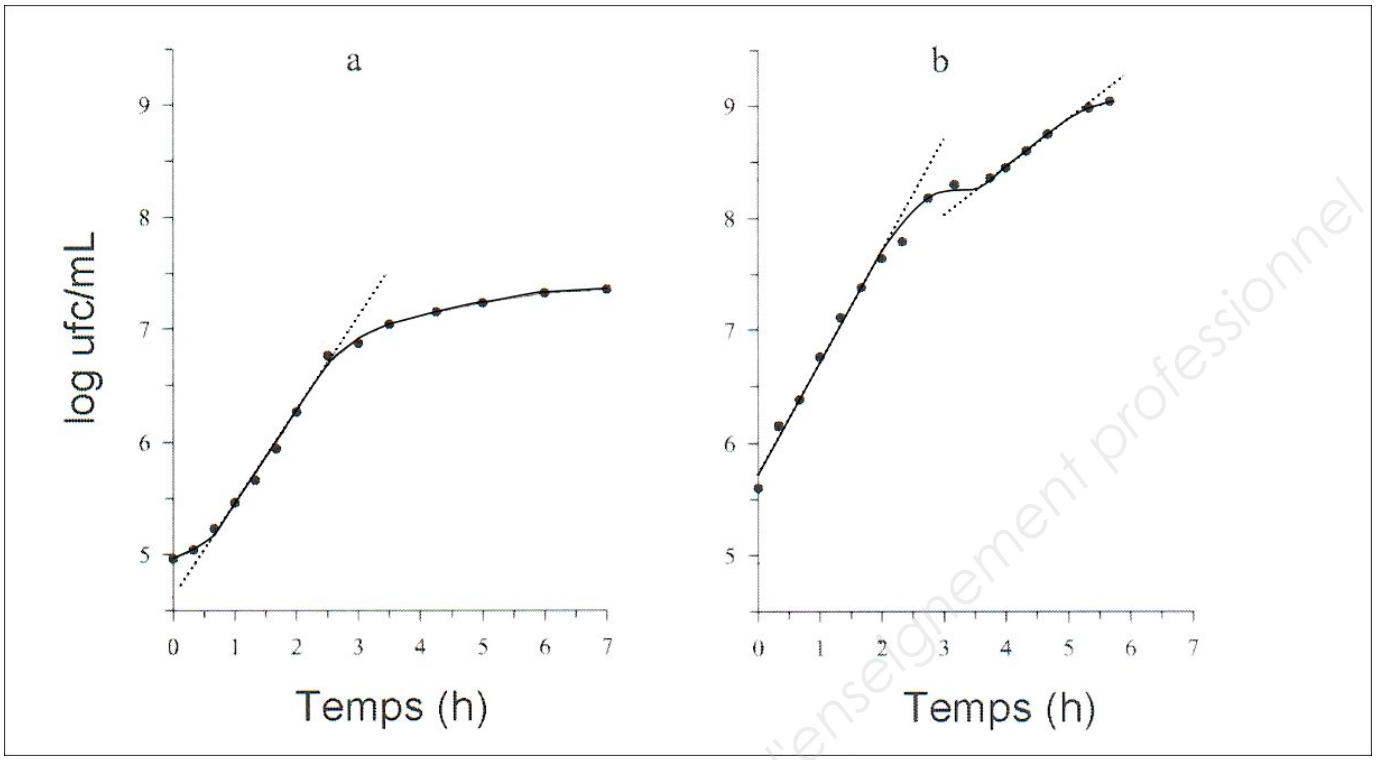


Figure a : souche protéase moins - Figure b : souche protéase plus
(Extrait de Letort *et al*, 2002)

DOCUMENT 5 : LE TEST ECLIPSE Farm

ECLIPSE farm est un test de détection qualitative des antibiotiques et des inhibiteurs dans les laits de vache, brebis ou chèvre.

Composition du coffret :

- Tubes unitaires**.** Chaque tube contient un milieu gélosé et glucosé au pourpre de bromocrésol. Ce milieu renferme des spores de *Geobacillus stearothermophilus.*
- Pipettes, film adhésif.
- Certificat qualité témoignant de la couleur violette initiale du milieu.

Stockage et conservation

Le coffret doit être conservé entre 4 et 12 °C à l'abri de la lumière. Sa durée de vie est de 12 mois après fabrication.

Matériel complémentaire non fourni

- Une étuve réglée à 65 °C.
- Pour les contrôles négatifs : Poudre de lait de vache ou poudre de lait de brebis ou poudre de lait de chèvre.
- Pour le contrôle positif : solution de Pénicilline G

Mode opératoire

- Distribuer dans chaque tube 100 µL de lait à analyser.
- Effectuer les contrôles en parallèle
- Fermer les tubes avec le film adhésif et placer les tubes dans une étuve à 65 °C pendant 2 h 45 minutes. À la fin de l'incubation, le contrôle négatif doit avoir changé de couleur.
- Effectuer la lecture des différents tubes.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

DOCUMENT 6 : PRÈSENTATION DE LA MÉTHODE ALTERNATIVE : VIDAS LMO2

Étapes de préparation de l'échantillon à analyser :

- Préparer la suspension mère de fromage en bouillon Fraser ½, incuber 24 à 26 heures à 30 °C - Pratiquer un repiquage en bouillon Fraser complet, incuber 24 à 26 heures à 30 °C.
- Le test VIDAS LMO2 est ensuite réalisé à partir d'un aliquote de Fraser complet. Le reste du bouillon est conservé au froid pour une éventuelle confirmation.

Présentation du matériel et des réactifs

Chaque test nécessite :

- Un cône à usage unique. Ce cône sert à la fois de phase solide et de système de pipetage pour le test. L'intérieur du cône est recouvert d'anticorps anti-*Listeria monocytogenes* absorbés sur sa surface.

Le cône

Une cartouche représentée ci-dessous. Elle est constituée de tubes qui contiennent les différents réactifs : solution de lavage, conjugué et substrat de la phosphatase alcaline

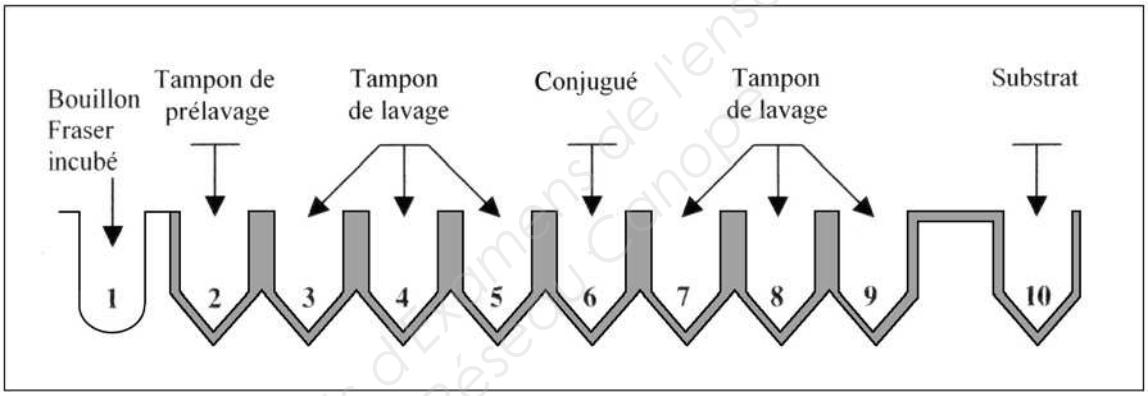


Schéma de la cartouche adapté de « Microbiologie alimentaire » de C et JN. JOFFIN

Mode opératoire

Toutes les réactions ont lieu dans le cône. Le traitement automatisé comprend plusieurs étapes successives :

- Prélavage du cône par aspiration /refoulement du contenu du tube 2 de la cartouche.
- Aspiration dans le cône puis refoulement de l'aliquote de bouillon Fraser placé dans le tube 1 de la cartouche.
- Lavage du cône (en 3, 4, 5).
- Aspiration dans le cône puis refoulement du conjugué (en 6).
- Lavage du cône (en 7, 8 et 9)
- Aspiration dans le cône de la solution de 4-méthyl-umbelliféryl-phosphate (substrat de la phosphatase alcaline) puis refoulement dans le même tube qui servira de cuve optique.
- Mesure de l'absorbance à 450 nm du contenu du tube 10.
- Si le résultat est négatif, l'analyse n'est pas poursuivie. Par contre en cas de résultat positif, une confirmation est nécessaire.

Base de données des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel Réseau Canopé

DOCUMENT 7 : MILIEU TBX

COMPOSITION

Composants	Concentration en $g.L^{-1}$ d'eau distillée
Tryptone	20
Sels biliaires	1,5
BCIG (acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronique	0,075
Agar agar	9

MODE D'EMPLOI

- Ensemencement dans la masse
- Incubation à 44 °C pendant 18 à 24 h

LECTURE

Procéder au comptage des colonies bleues caractéristiques dans les boites contenant moins de 150 colonies.

DOCUMENT 8 : EXTRAIT DES CRITÈRES MICROBIOLOGIQUES UTILISÉS DANS L'ENTREPRISE

Désignation	Plan d'échantillonnage	Escherichia coli
Lait ayant subi un traitement thermique plus faible que la pasteurisation	n = 5 c = 2	$m = 10^1$ UFC.g^{-1} $M = 10^2$ UFC.g^{-1}
Fromage au lait pasteurisé	n = 5 c = 2	$m= 10^2$ UFC.g^{-1} $M = 10^3$ UFC.g^{-1}

Analyse des résultats :

- Qualité satisfaisante si toutes les valeurs observées sont ≤ m.
- Qualité acceptable lorsqu'un maximum de $\frac{c}{n}$ valeurs se situe entre m et M, et que le reste des valeurs observées est < m.
- Qualité insatisfaisante lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont > M ou lorsque plus de $\frac{c}{n}$ valeurs se situent entre m et M.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.