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 :
formav.co/explorer

BTS BioAlc

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

Session 2019 • Code sujet : **BAE3MT** • Durée : **3 heures** • Coefficient : **3**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. Optimisation de points critiques dans l'industrie laitière (16 questions) **Page 3**

2. Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ) (Synthèse & Q&A Examen) **Page 11**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2019/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2019 - 2-Sujet.pdf

1. Optimisation de points critiques dans l'industrie laitière

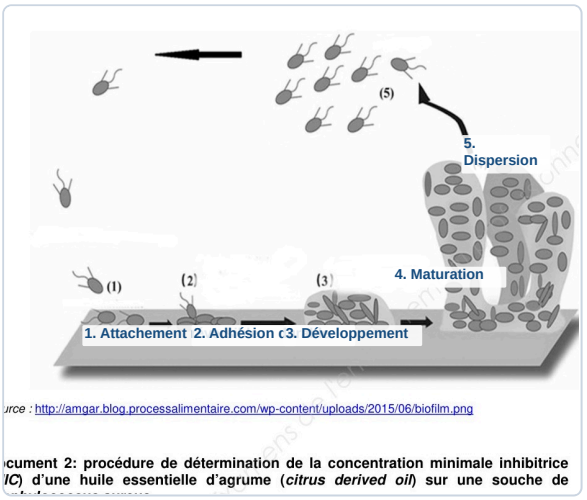
Une entreprise de fromage au lait cru étudie plusieurs étapes de son procédé afin de maîtriser les risques microbiologiques : biofilms sur les mamelles, stockage du lait, phages et recherche de Listeria dans le produit fini. Les documents fournis comprennent des schémas, des protocoles, des résultats expérimentaux et des critères réglementaires à analyser.

1. Suivi de la formation de biofilms

Question Q1. Proposer une définition d'un biofilm et légender les actions numérotées de 1 à 5 sur le schéma des étapes de sa formation.

Un biofilm est une communauté de micro-organismes attachés à une surface et englobés dans une matrice extracellulaire qu'ils produisent. Le schéma montre successivement l'arrivée et l'attachement réversible des bactéries (1), leur adhésion irréversible et la formation de microcolonies (2), la production de matrice et le développement du biofilm (3), sa maturation en structure organisée (4), puis le détachement et la dispersion de bactéries capables de coloniser d'autres surfaces (5).

Étapes de formation du biofilm légendées



urce : http://amgar.blog.processalimentaire.com/wp-content/uploads/2015/06/biofilm.png

cument 2: procédure de détermination de la concentration minimale inhibitrice *IC*) d'une huile essentielle d'agrume (*citrus derived oil*) sur une souche de

✓ RÉPONSE À RETENIR

Biofilm : communauté microbienne fixée à une surface dans une matrice extracellulaire. Étapes : attachement, adhésion, développement, maturation, dispersion.

Question Q2. Identifier la nature biochimique et le rôle des deux structures bactériennes qui contribuent à former des biofilms, puis déduire deux stratégies de lutte contre ces biofilms.

Les pili ou fimbriae sont des appendices de nature protéique qui permettent aux bactéries de s'attacher aux cellules ou aux surfaces. Le glycocalyx, souvent riche en polysaccharides, forme une matrice extracellulaire qui fixe les bactéries entre elles et les protège. Pour lutter contre les biofilms, on peut prévenir l'adhésion, par exemple par un nettoyage adapté des surfaces, et détruire la matrice déjà formée par un nettoyage-désinfection efficace ou un traitement enzymatique approprié.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Pili protéiques : adhésion. Glycocalyx polysaccharidique : cohésion et protection. Prévenir l'adhésion et éliminer la matrice du biofilm.

1.1 Stratégie d'inhibition de Staphylococcus aureus

Question Q3. Expliquer l'origine possible de Staphylococcus aureus dans les biofilms observés au niveau des mamelles bovines.

Le biotype humain des souches de *Staphylococcus aureus* suggère une origine humaine. Un porteur sain ou une personne infectée peut transmettre la bactérie aux trayons, notamment par les mains, le matériel ou les pratiques de traite. La bactérie peut ensuite coloniser la peau ou une lésion du trayon et contribuer à la formation d'un biofilm.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Origine possible : contamination humaine transmise aux trayons par les mains ou le matériel de traite.

Question Q4. Proposer une stratégie classique de traitement des mammites infectieuses et expliquer l'intérêt de la remplacer par l'application directe d'huile essentielle.

Le traitement classique d'une mammite bactérienne repose notamment sur un antibiotique administré par voie intramammaire, sous prescription vétérinaire et en respectant le délai d'attente. Une application locale d'huile essentielle sur la lésion pourrait agir directement sur la bactérie et réduire le recours aux antibiotiques. L'intérêt attendu est de limiter les résidus dans le lait et la sélection de bactéries résistantes. Cette stratégie doit cependant être validée quant à son efficacité et à son innocuité pour l'animal et le lait.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Traitement classique : antibiotique intramammaire. L'huile essentielle locale pourrait réduire l'usage d'antibiotiques, les résidus et la sélection de résistances.

Question Q5. Expliquer la composition qualitative de la cupule témoin positif utilisée pour déterminer la CMI, puis expliquer comment déterminer la CMI après incubation.

Le témoin positif contient le bouillon nutritif, l'inoculum de *S. aureus* et le DMSO utilisé comme solvant, mais pas d'huile essentielle. Il vérifie que la souche se développe et que le solvant ne bloque pas sa croissance. Après incubation, on compare la croissance visible dans les cupules contenant les différentes concentrations d'huile à celle du témoin. La CMI est la plus faible concentration d'huile pour laquelle aucune croissance visible n'est observée.

✓ RÉPONSE À RETENIR

CMI : plus faible concentration d'huile essentielle sans croissance visible, comparée au témoin de croissance.

1.2 Caractérisation des souches d'Escherichia coli

Question Q6. Proposer une précaution à prendre lors des prélèvements de sécrétions mammaires et indiquer une conséquence possible si cette précaution n'est pas respectée.

Utiliser un écouvillon stérile distinct pour chaque quartier, après nettoyage des trayons, et éviter tout contact de l'écouvillon avec la peau ou du matériel souillé. Cette précaution limite les contaminations croisées. Si elle n'est pas respectée, une souche peut être introduite depuis un autre quartier ou depuis l'environnement. Le résultat peut alors attribuer à tort une infection à un quartier et fausser l'analyse des génotypes et des récidives.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Un écouvillon stérile par quartier, sans contact contaminant. Sinon, risque de contamination croisée et de résultat erroné.

Question Q7. Analyser l'électrophorégramme de la vache A et déterminer le nombre de cas de mammite différents caractérisés par leur génotype, le nombre total de récidives et le nombre de cas où le génotype et le quartier sont identiques. Établir un lien entre les récidives observées pour l'ensemble des vaches et l'existence de biofilms.

Chez la vache A, les cinq prélèvements présentent trois génotypes distincts. Les prélèvements LF des jours 48 et 67 ont le même profil génétique et concernent le même quartier. Le prélèvement du jour 67 dans plusieurs quartiers constitue également des récidives selon la définition fournie. Au total, on compte quatre récidives et deux cas où génotype et quartier sont identiques. Pour l'ensemble des vaches, la persistance de profils identiques est compatible avec un réservoir bactérien dans un biofilm, sans le démontrer à elle seule.

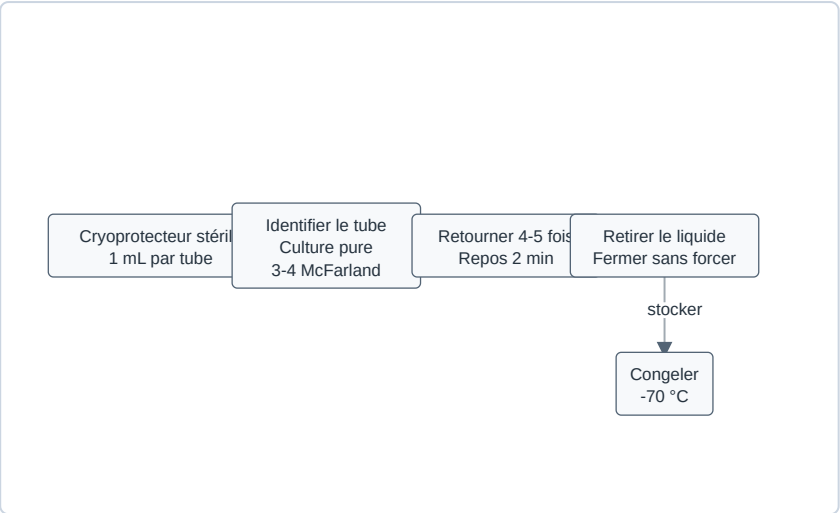
✓ RÉPONSE À RETENIR

Vache A : 3 génotypes distincts, 4 récidives et 2 cas de même génotype dans le même quartier.

Question Q8. Présenter sous forme d'organigramme le mode opératoire de préparation des tubes et de congélation des souches de référence. Expliquer le mode d'action des agents cryoprotecteurs et donner un exemple.

Préparer aseptiquement les tubes avec 1 mL de cryoprotecteur stérile, puis identifier un tube par souche. À partir d'une culture pure, de préférence âgée de 18 à 24 h, prélever assez de colonies pour obtenir une suspension de 3-4 McFarland. Fermer et retourner le tube 4 à 5 fois, sans vortexer, puis laisser reposer 2 minutes pour que les cellules se fixent aux billes. Retirer le cryoprotecteur, fermer sans forcer et congeler à -70 °C. Le cryoprotecteur limite les dommages causés par la glace ; le glycérol en est un exemple.

Préparation et congélation des souches



Étapes essentielles du protocole Microbank Dry.

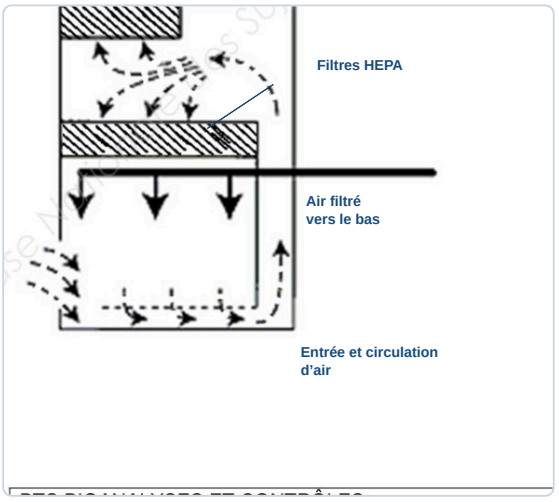
✓ RÉPONSE À RETENIR

Culture pure et cryoprotecteur, fixation aux billes, retrait du liquide, congélation à -70 °C. Exemple : glycérol.

Question Q9. Sur la coupe du poste de sécurité microbiologique de type II, identifier les flèches en traits pleins, les flèches en pointillés et les zones hachurées, puis déduire trois avantages de l'utilisation de cet équipement.

Les flèches pleines représentent les flux d'air filtré, notamment le flux vertical descendant dans la zone de travail et l'évacuation vers le haut. Les flèches en pointillés montrent l'entrée d'air depuis l'extérieur et sa circulation dans l'enceinte. Les zones hachurées correspondent aux filtres HEPA. Le PSM de type II protège simultanément le produit des contaminations, l'opérateur des aérosols et l'environnement de la dispersion des micro-organismes.

Coupe du PSM II annotée



✓ RÉPONSE À RETENIR

Traits pleins : flux d'air filtré. Pointillés : entrée et circulation de l'air. Hachures : filtres HEPA. Protection du produit, de l'opérateur et de l'environnement.

2.1 Température de stockage du lait

Question Q10. Expliquer la distinction entre germes psychrophiles et psychrotrophes. Analyser les résultats de l'étude de 2001 et conclure sur la possibilité de stocker le lait après la traite à 8 °C, en précisant la durée maximale de conservation à cette température.

Les psychrophiles ont une température optimale de croissance basse. Les psychrotrophes peuvent croître à basse température, mais leur optimum est plus élevé. L'étude montre une croissance microbienne plus rapide à 8 °C qu'à 4 °C ; le critère avant transformation est inférieur à 300 000 germes/mL. Les altérations lipolytiques et protéolytiques sont néanmoins plus lentes à 8 °C. Le stockage à 8 °C est donc envisageable sur une courte durée, au maximum 24 h, sous réserve du respect du critère microbiologique.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> À 8 °C, stockage possible au maximum 24 h, sous réserve du respect du critère de moins de 300 000 germes/mL avant transformation.

2.2 Recherche de bactériophages dans les eaux de rinçage

Question Q11. Expliquer pourquoi une multiplicité d'infection faible est nécessaire à la mise en œuvre d'un dénombrement de phages.

Une MOI faible signifie que le nombre de bactéries sensibles est largement supérieur au nombre de phages. Chaque phage infectieux peut alors infecter une cellule et produire une plage de lyse isolée. À MOI élevée, plusieurs phages peuvent attaquer la même bactérie et les plages peuvent se chevaucher ou confluer. Le dénombrement devient alors difficile et ne représente plus correctement le nombre de virions infectieux de l'échantillon.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Une MOI faible permet d'obtenir des plages de lyse isolées, dénombrables et représentatives des phages infectieux.

Question Q12. Analyser le protocole de titration phagique en donnant le rôle des éléments soulignés. Construire un tableau de dilution des phages d'une eau non traitée, dont le titre attendu est d'environ 10^6 UFP·mL^{-1}.

La souche sensible permet aux phages de former des plages de lyse. Les tubes stériles préchauffés évitent une contamination et limitent le refroidissement du mélange ; le séjour de 4 min à 37 °C favorise le contact phage-bactérie. La gélose demi-molle maintenue à 46 °C reste liquide pour être répartie, sans être assez chaude pour détruire les bactéries. Une homogénéisation douce préserve le mélange et permet une couche régulière. Pour un titre initial de 10^6 UFP/mL, les trois dilutions autour de 10^{-3} sont adaptées.

Tube	Préparation	Dilution cumulée	Plages théoriques pour 100 µL
1	1 mL d'eau + 9 mL de NaCl stérile	10^{-1}	10 000
2	1 mL du tube 1 + 9 mL de NaCl	10^{-2}	1 000
3	1 mL du tube 2 + 9 mL de NaCl	10^{-3}	100
4	1 mL du tube 3 + 9 mL de NaCl	10^{-4}	10
5	1 mL du tube 4 + 9 mL de NaCl	10^{-5}	1

Tester 10^{-2}, 10^{-3} et 10^{-4} ; la dilution 10^{-3} devrait fournir environ 100 plages.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Tester 10^{-2}, 10^{-3} et 10^{-4}. Environ 100 plages sont attendues avec 100 µL de la dilution 10^{-3}.

Question Q13. Proposer un mode opératoire pour réaliser deux boîtes témoins et préciser le résultat attendu.

Préparer une boîte témoin de croissance en mélangeant 100 µL de culture bactérienne avec 3 mL de gélose demi-molle sans suspension phagique, puis couler le mélange sur une gélose LB. Préparer une seconde boîte témoin de stérilité avec 100 µL de NaCl stérile à la place de la culture, sans phages, et procéder de la même façon. Incuber les deux boîtes retournées dans les mêmes conditions que les essais. La première vérifie la croissance de la souche ; la seconde contrôle l'absence de contamination des milieux et manipulations.

- Témoin de croissance : tapis bactérien, sans plage de lyse.
- Témoin de stérilité : aucune croissance.

> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Témoin de croissance : tapis sans plages. Témoin de stérilité : aucune croissance.

2.3 Recherche de Listeria monocytogenes dans le produit fini

Question Q14. Donner le rôle des constituants apparaissant en gras dans la composition de la gélose Oxford et justifier l'aspect caractéristique d'une colonie de Listeria monocytogenes.

Les polypeptones et l'extrait de levure apportent des nutriments ; l'amidon adsorbe certaines substances inhibitrices et le chlorure de sodium contribue à l'équilibre osmotique. Le chlorure de lithium et les agents antimicrobiens sélectionnent les Listeria en freinant la flore concurrente. L'agar solidifie le milieu. L'esculine hydrolysée par Listeria produit de l'esculetine, qui réagit avec le citrate ferrique ammoniacal et forme un précipité noir, d'où le halo puis les zones noires caractéristiques.

Constituants	Rôle
Polypeptone, extrait de levure	Apports nutritifs
Amidon, chlorure de sodium	Adsorption de substances inhibitrices ; équilibre osmotique
Esculine, citrate ferrique ammoniacal	Différenciation par précipité noir après hydrolyse de l'esculine
Chlorure de lithium, cycloheximide, colistine, céfotétan, fosfomycine, acriflavine	Inhibition de la flore concurrente
Agar	Solidification du milieu

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Colonies vert olive, puis plus foncées, avec halo ou zones noires dus à l'hydrolyse de l'esculine et à sa réaction avec le citrate ferrique.

Question Q15. Expliquer l'intérêt de l'utilisation de méthodes alternatives de recherche de Listeria fondées sur la PCR ou sur la spectrométrie de masse.

La PCR permet de rechercher rapidement et spécifiquement l'ADN de *Listeria monocytogenes*, notamment après l'enrichissement prévu par le plan de référence. La spectrométrie de masse identifie rapidement une colonie à partir de son profil protéique comparé à une base de référence. Ces méthodes raccourcissent le délai d'obtention d'un résultat et facilitent le dépistage. Elles sont utilisées comme méthodes alternatives selon une procédure validée ; les résultats suspects sont confirmés par la méthode de référence lorsque le plan l'exige.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> PCR : détection rapide et spécifique de l'ADN. Spectrométrie de masse : identification rapide des colonies par leur profil protéique.

Bilan

Question Q16. À l'aide de l'arbre de décision de l'OMS, justifier que l'étape de stockage du lait avant transformation constitue un point critique.

Le stockage présente un danger microbiologique : les germes présents dans le lait cru peuvent s'y multiplier. Des mesures préventives existent, notamment la maîtrise et la surveillance de la température et de la durée. Le froid ne détruit pas les bactéries, mais limite leur multiplication afin de maintenir la charge microbienne à un niveau acceptable avant transformation. Selon l'arbre de décision, les réponses aux trois questions sont donc oui : danger présent, mesures préventives appliquées, réduction de la multiplication à un niveau maîtrisé. Le stockage constitue ainsi un point critique.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Le stockage est un point critique : surveiller la température et la durée pour limiter la multiplication microbienne à un niveau acceptable.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2019)

Bilan de l'épreuve : Épreuve E3, unité U32, du BTS Bioanalyses et Contrôles, session 2019, code BAE3MT, d'une durée de 3 heures et de coefficient 3. Sur 40 points, elle porte sur l'optimisation des points critiques de la fabrication de fromage au lait cru. Elle évalue l'analyse microbiologique, l'interprétation de résultats, l'exploitation de protocoles et l'adaptation de méthodes de contrôle.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- Un biofilm réunit des microorganismes fixés à une surface et une matrice extracellulaire qui favorise leur maintien et leur protection.
- La CMI est la plus faible concentration d'un agent antimicrobien qui empêche une croissance visible dans les conditions du test.
- En double couche, les plages de lyse permettent de dénombrer les phages infectieux sur une bactérie hôte sensible.
- Sur gélose Oxford, Listeria monocytogenes forme des colonies vert-olive entourées d'un halo noir, lié à la réaction de l'esculine.

Points de vigilance & attentes du jury

- Pour lire un profil génétique, comparer les bandes et tenir compte du quartier et du jour de lactation indiqués.
- Dans un protocole de titration, distinguer dilution, infection de l'hôte, incubation et ensemencement en double couche.
- Pour interpréter les courbes de stockage, comparer les températures, les flores dénombrées et les seuils réglementaires.
- Pour conclure sur un point critique, suivre successivement les trois questions de l'arbre de décision de l'OMS.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment choisir les dilutions à tester pour dénombrer les phages ?

Préparer des dilutions décimales successives et en tester trois adaptées au titre attendu. Retenir une boîte lisible avec des plages dénombrables, puis rapporter le comptage à la dilution et au volume de suspension analysé.

Q : Pourquoi faut-il une multiplicité d'infection faible pour le dénombrement ?

Une faible multiplicité d'infection limite les infections multiples d'une même bactérie. Les phages infectieux produisent alors des plages de lyse distinctes, ce qui permet un dénombrement plus représentatif des virions infectieux présents.

Q : Quels éléments vérifier avant de conclure sur le stockage à 8 °C ?

Comparer l'évolution des flores à 4 °C et à 8 °C, puis confronter les résultats aux critères d'hygiène applicables au lait cru. Tenir aussi compte des effets observés sur la lipolyse, la protéolyse et les propriétés sensorielles.

Q : Qu'est-ce qui justifie le repérage d'une colonie suspecte sur gélose Oxford ?

Après incubation, une colonie suspecte de Listeria monocytogenes est vert-olive avec un halo noir, puis devient plus foncée avec un centre noir. Cet aspect oriente l'identification, mais ne remplace pas les étapes de confirmation prévues.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire/2019/BTS BioAlc - E3 - Gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire - Session 2019 - 2-Sujet.pdf
Ressources BTS BioAlc : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

Copyright © 2027 FormaV®. Tous droits réservés.

FormaV® est une marque déposée auprès de l'INPI sous le numéro 5227897.

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.