SESSION 2019
Métropole

BACCALAURÉAT PROFESSIONNEL
E5 TECHNIQUES PROFESSIONNELLES

Option : Laboratoire contrôle qualité

Durée : 180 minutes

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Aucun**

Le sujet comporte 12 pages

L'annexe A est à rendre avec la copie après avoir été numérotée

---

SUJET

Les documents et le contexte ont été modifiés pour les besoins de l'épreuve

Vous êtes technicien(ne) de laboratoire à l'INSERM (Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale), en charge de la veille technique sur les méthodes de caractérisation des salmonelles. Actuellement, une augmentation des souches de salmonelles multirésistantes est signalée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), en particulier dans les viandes contenant des traces d'antibiotiques. Le développement de la multirésistance des salmonelles aux antibiotiques dans les filières lapin-volaille est une préoccupation croissante des entreprises de transformation alimentaire.

Vous devez conseiller une entreprise de transformation de viande de volaille labellisée sur :
- l'efficacité des différentes méthodes de recherche de salmonelles ;
- une méthode de recherche de traces d'antibiotiques dans la viande.

1 Contexte des activités d'analyse *(4 points)*

1.1 Citer le secteur professionnel auquel l'INSERM apporte son expertise dans le cas présent.

À l'aide du **document 1,**

1.2 Justifier que la filière « volaille » est une filière à risque microbiologique.

1.3 Préciser en quoi il est nécessaire de rechercher spécifiquement *Salmonella*.

À l'aide du **document 2,**

1.4 Justifier l'intérêt, pour une entreprise, de mettre en place une méthode alternative à la méthode standard pour la recherche de *Salmonella*.

2 Comparaison des méthodes de recherche de *Salmonella* *(6 points)*

Pour la recherche de *Salmonella*, vous avez retenu 3 méthodes alternatives présentées dans **les documents 3, 4 et 5.**

2.1 Préciser le principe de la méthode RAPID'*Salmonella.*

2.2 Expliquer le rôle de l'étape d'enrichissement.

2.3 Indiquer, en justifiant votre réponse et à l'aide du **document 6**, la longueur d'onde à laquelle la lecture du résultat du Test VIDAS Salmonella doit se réaliser.

2.4 Compléter le tableau comparatif des méthodes de recherche de *Salmonella* donné en **annexe A (à rendre avec la copie)**.

Disposant d'un budget restreint, l'entreprise vous demande conseil pour la mise en place de l'analyse.

2.5 Proposer et justifier la méthode de recherche qui vous semble la plus pertinente parmi celles présentées.

3 Recherche de traces d'antibiotiques dans les viandes *(5 points)*

L'entreprise souhaite vérifier l'absence de traces de pénicilline dans ses produits. Cette analyse s'effectue par HPLC.

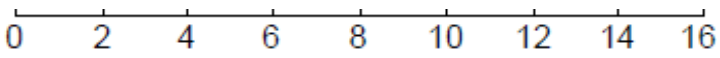
3.1 Expliquer le rôle de la pompe et de la colonne HPLC présentées dans le **document 7**.

Le **document 8** présente des chromatogrammes d'un témoin composé d'un mélange de 6 antibiotiques obtenus à partir de différents jeux de paramètres opératoires notés A, B et C.

3.2 Identifier, en justifiant votre réponse, le jeu de paramètres le plus adapté à l'analyse.

L'analyse par chromatographie HPLC d'un échantillon de viande contenant uniquement des traces de pénicilline s'effectue avec les paramètres retenus à la question précédente.

3.3 Tracer l'allure du chromatogramme attendu après avoir recopié et complété l'axe ci-dessous :



4 Recherche de multirésistance *(5 points)*

Votre laboratoire de l'INSERM a remarqué qu'une même souche de Salmonelles a été plusieurs fois identifiée dans des échantillons contaminés de l'entreprise. Vous êtes chargé de vérifier que cette souche est multirésistante.

4.1 Présenter les grandes étapes de la méthode de référence de recherche de résistance d'une souche microbienne aux antibiotiques.

Cette recherche peut aussi se faire par PCR (**document 9**).

4.2 Présenter le principe et les grandes étapes de la méthode PCR.

4.3 Citer l'élément qui assure la spécificité de la réaction PCR.

4.4 Proposer une composition de mix permettant d'identifier une résistance à plusieurs antibiotiques en une seule réaction PCR.

4.5 Citer les avantages et inconvénients de la méthode PCR par rapport à la méthode de référence.

.

<u>DOCUMENT 1</u> : Caractéristiques des maladies salmonelloses non-typhiques et fièvres typhoïdes chez l'être humain

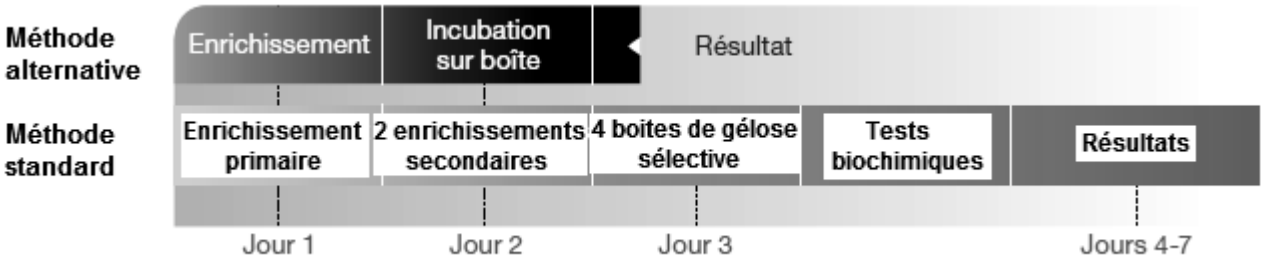
(D'après www.anses.fr/fr/system/files.MIC2011sa0057Fi.pdf)

Durée moyenne d'incubation	Population cible	Principaux symptômes	Durée des symptômes	Durée de la période contagieuse	Complications
Salmonelloses non-typhiques					
6-72 heures Le plus souvent de 12-36 heures	Cosmopolite, toutes classes d'âges	Nausées, vomissements Douleurs abdominales Diarrhées Maux de tête Frissons Fièvre à 39-40 °C	5-7 jours	Généralement de plusieurs jours à plusieurs semaines. Parfois plusieurs mois: 1 % des patients adultes et 5 % des enfants de moins de 5 ans peuvent rester excréteur pendant moins de 12 mois.	Bactériémie dans 3 à 10 % des cas Déshydratation Taux d'hospitalisation (22,1 %) Taux de mortalité (0,8 %)
Fièvres typhoïdes					
3 jours-1 mois Le plus souvent de 8-14 jours	Cosmopolite, toutes classes d'âges	Fièvre prolongée Céphalées intenses Anorexie Constipation le plus souvent ou diarrhées Somnolence, prostration le jour, insomnie nocturne, macules rosées au niveau des flancs ou du thorax	/	Pendant toute la durée des symptômes et plusieurs semaines après. 10 % des patients restent excréteurs pendant 3 mois après le début des symptômes. 2 à 5 % deviennent des porteurs chroniques	Complications digestives (hémorragies, perforations) Localisations extradigestive: ostéite, cholécystite, etc. Complications myocardiques: insuffisance cardiaque Létalité (1 % avec antibiothérapie adaptée)

<u>SOURCES DU DANGER</u>

Le réservoir principal de *Salmonella spp* est constitué par le tractus gastro-intestinal des mammifères (porcs, bovins) et des oiseaux (volailles domestiques). Certaines souches peuvent également être isolées d'autres sources, telles que les animaux aquatiques (mollusques, poissons). Le réservoir animal constitue la principale source de danger. Les salmonelles présentes dans les matières fécales des animaux peuvent contaminer les pâturages les sols et l'eau et y survivre pendant plusieurs mois ; l'environnement peut ainsi devenir une source de danger. Pour *Salmonella typhi*, l'homme est l'unique réservoir.

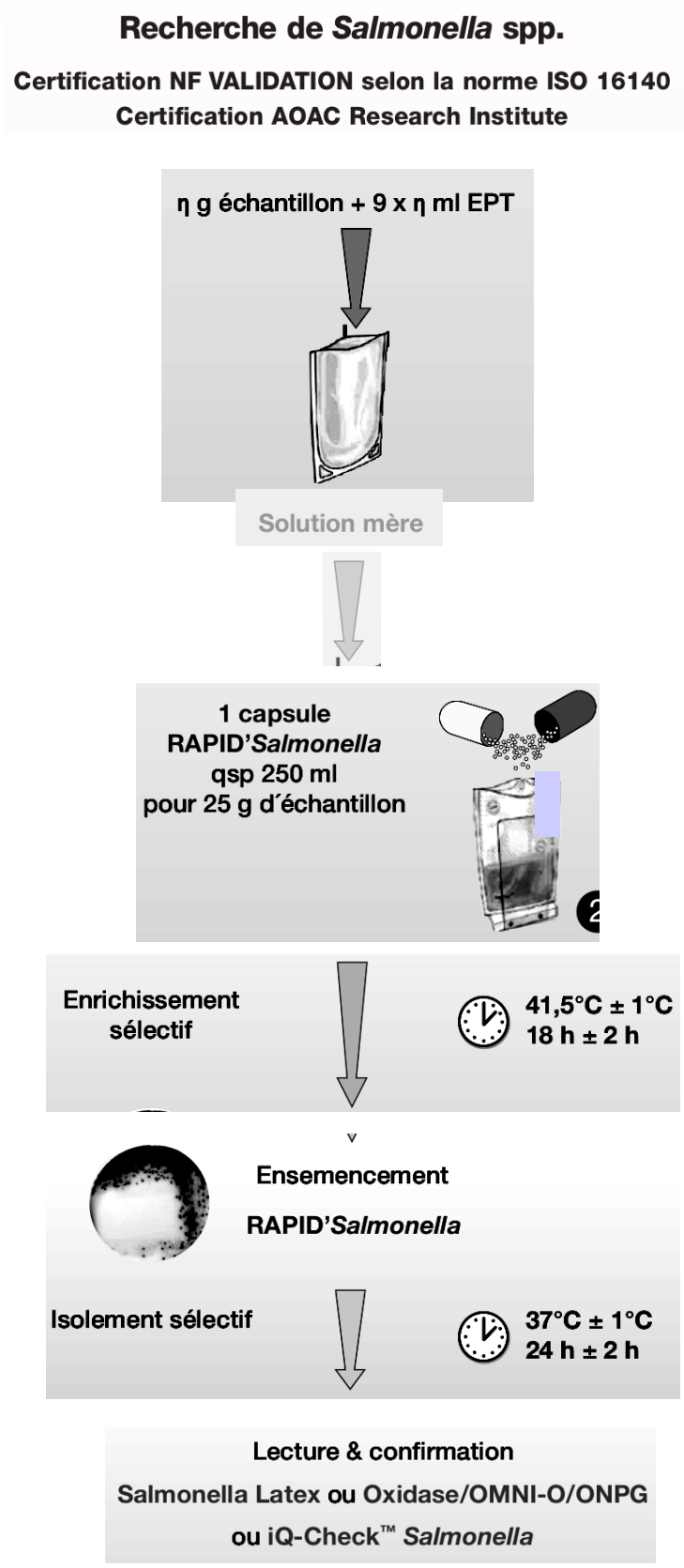
DOCUMENT 2
Comparaison méthodes standard et alternative



D'après Gélose RAPID'*Salmonella*, BIO-RAD

DOCUMENT 3

Schéma protocolaire du test RAPID'*Salmonella*

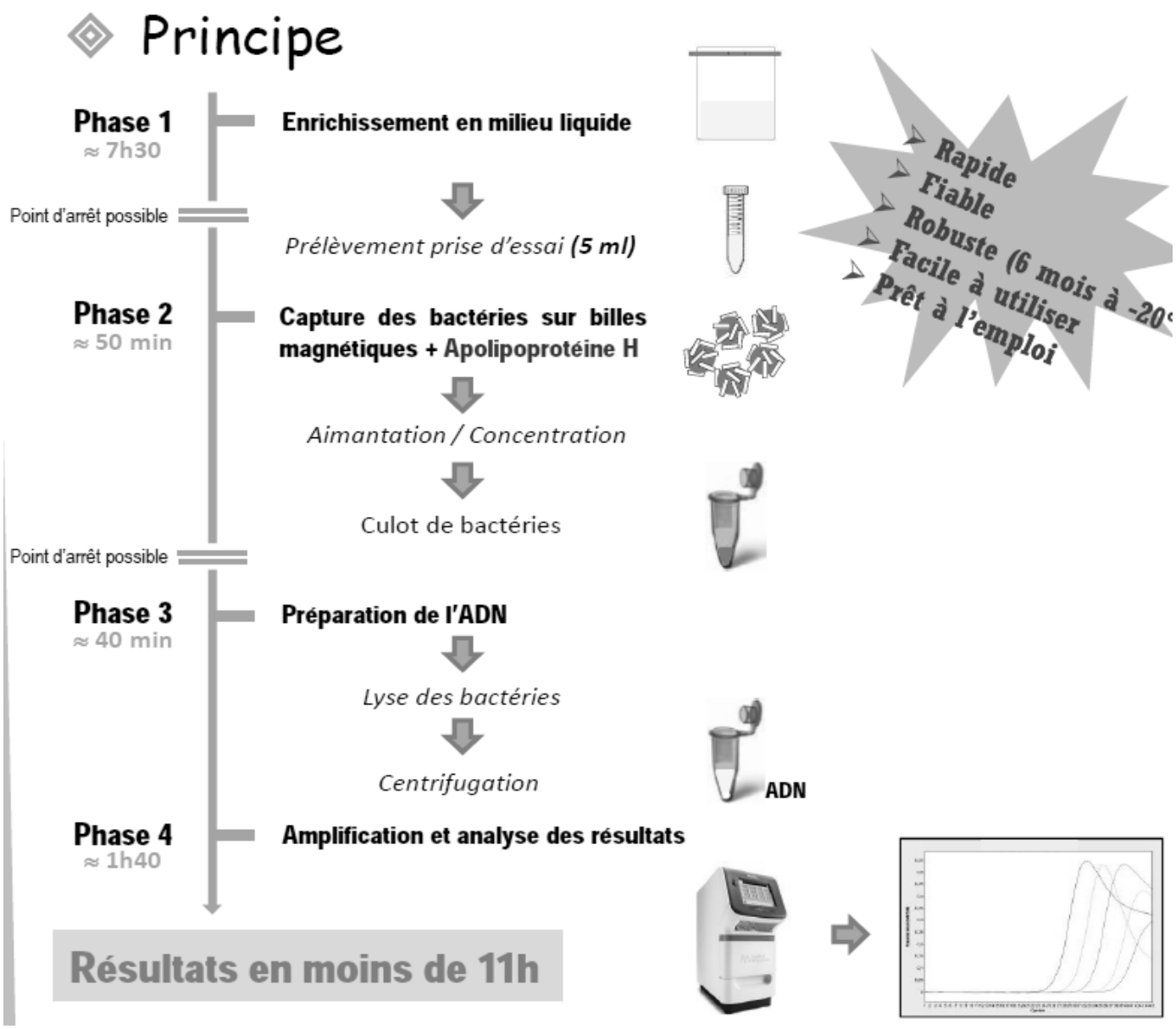


Mise en suspension par broyage

Les *Salmonella* spp. se présentent sous la forme de colonies caractéristiques magenta faciles à identifier. Cette coloration est due à l'activité de deux enzymes de la bactérie.

D'aprés la notice d'utilisation de la gélose RAPID'*Salmonella, BIO-RAD*®

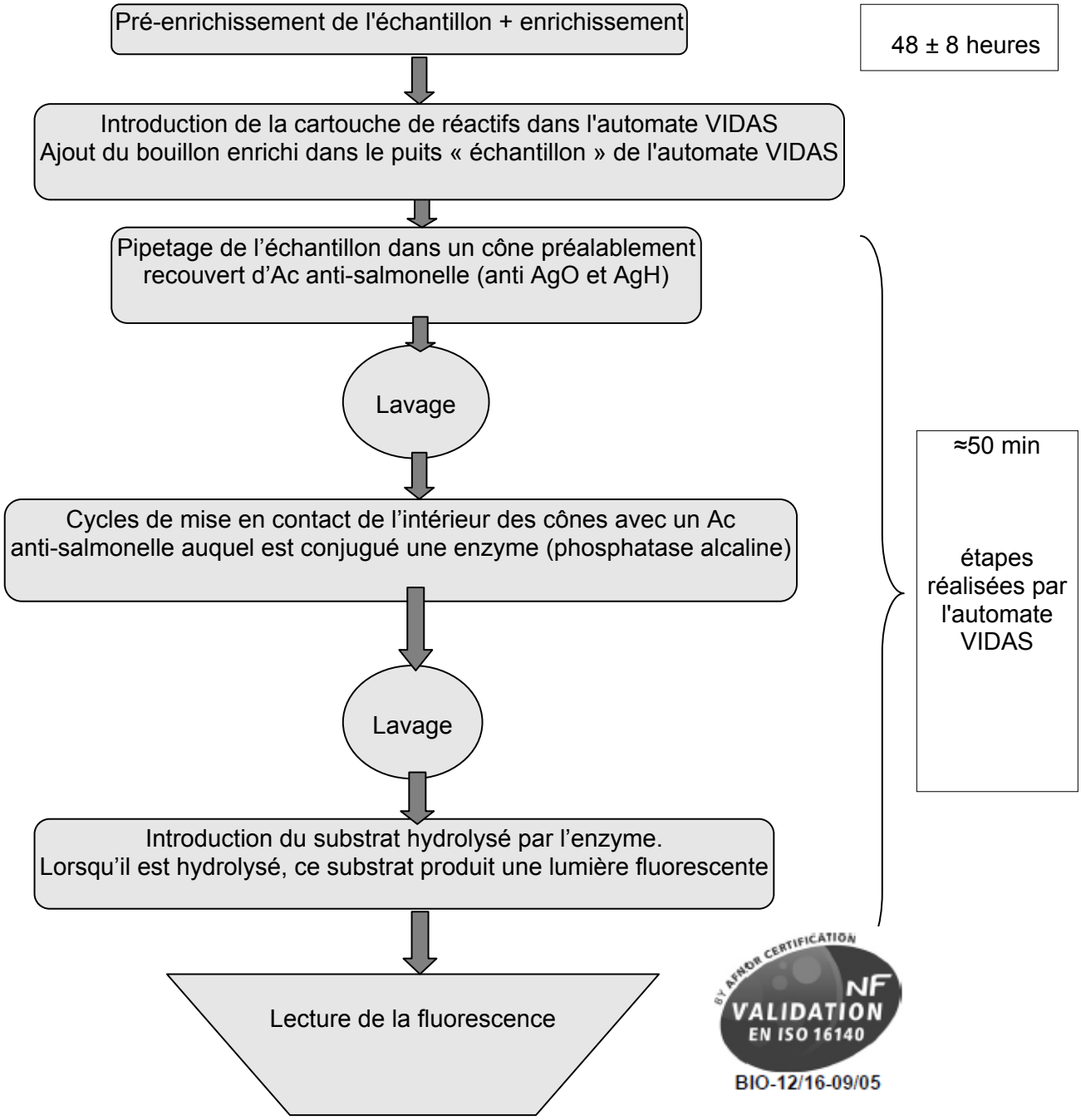
DOCUMENT 4
Test AQMC



D' après *Test Salmonella spp, AQMC*

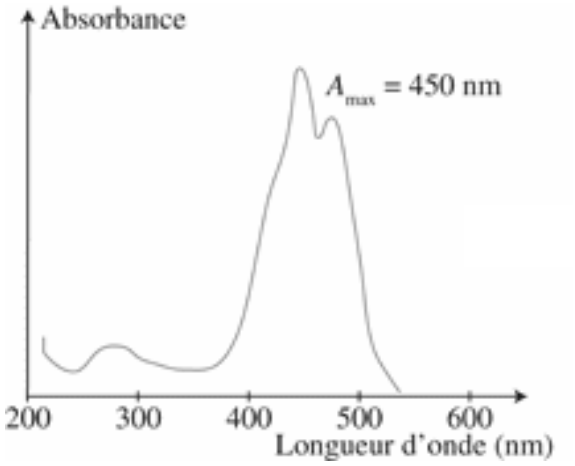
DOCUMENT 5
Test VIDAS Salmonella (SLM)

Test qualitatif VIDAS Salmonella
Schéma récapitulatif du protocole



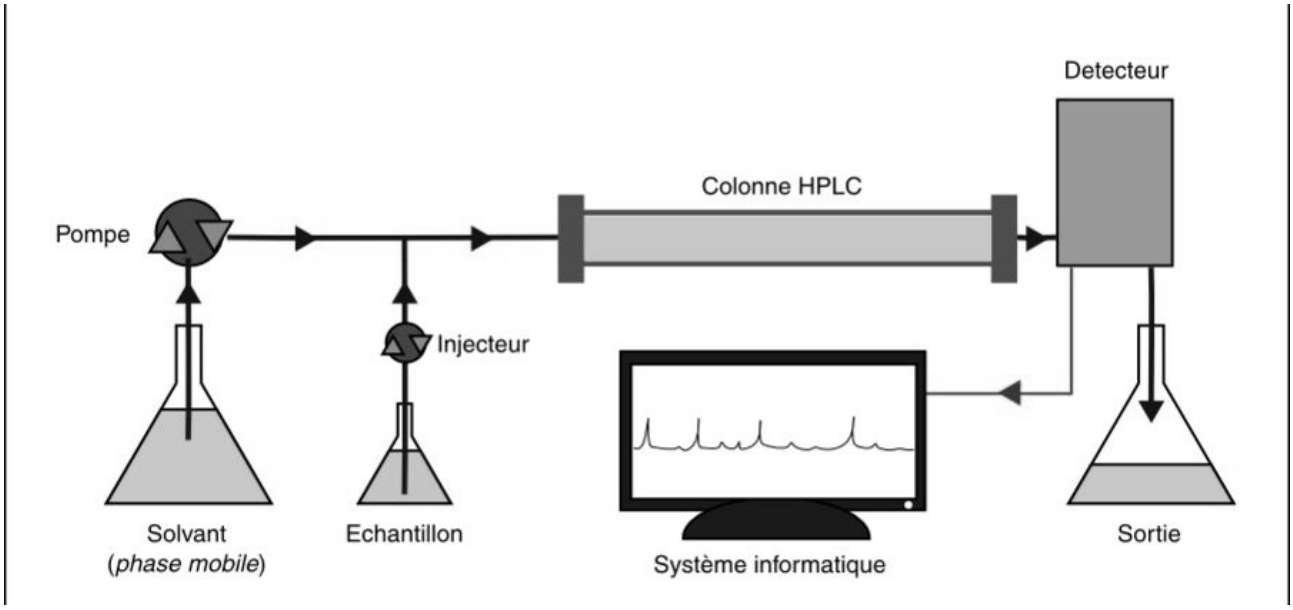
D'après *VIDAS Salmonella (SLM), bioMérieux SA*

DOCUMENT 6
Spectre d'absorption du substrat hydrolysé utilisé lors du test VIDAS Salmonella (SLM)



D'après www.annabac.com/sujet-corrige-bac/antioxydants-pigmentes

DOCUMENT 7
Principe de fonctionnement de l'HPLC



D'après http://www.puerh.fr/article/science_sante_vers_une_empreinte_des_thes_puerh.htm

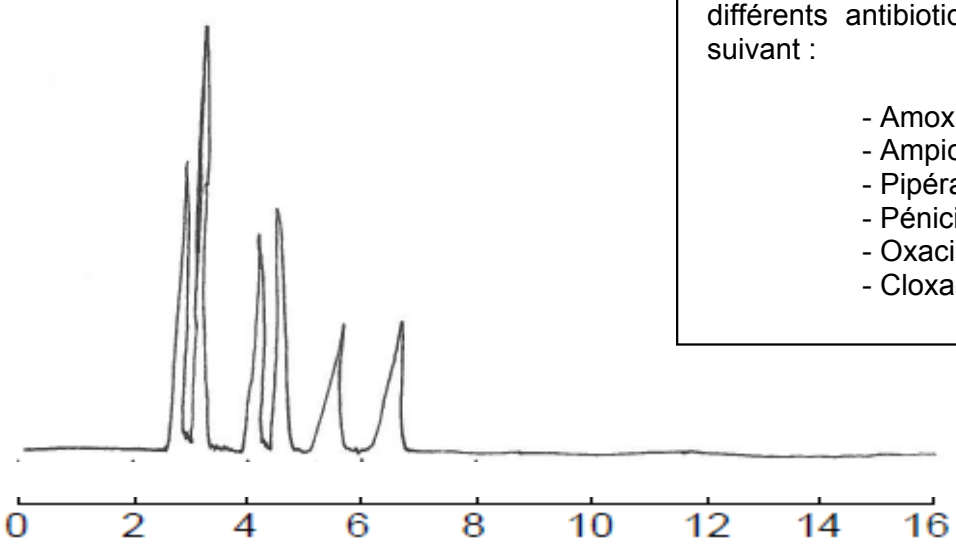
DOCUMENT 8

Chromatogrammes d'un témoin composé d'un mélange de 6 antibiotiques obtenus à partir de différents jeux de paramètres

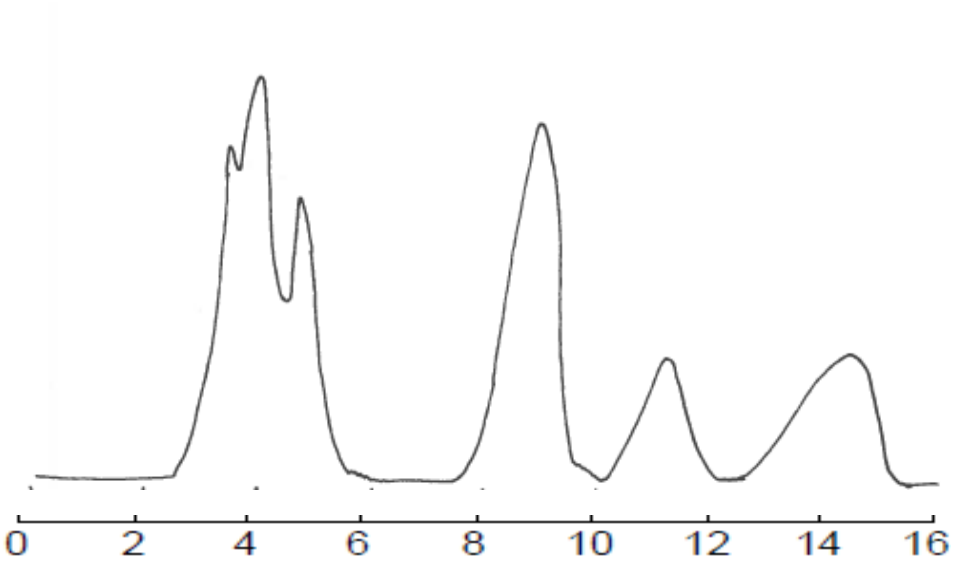
Jeu de paramètres A

Lors de l'analyse par HPLC, l'élution des différents antibiotiques se fait dans l'ordre suivant :

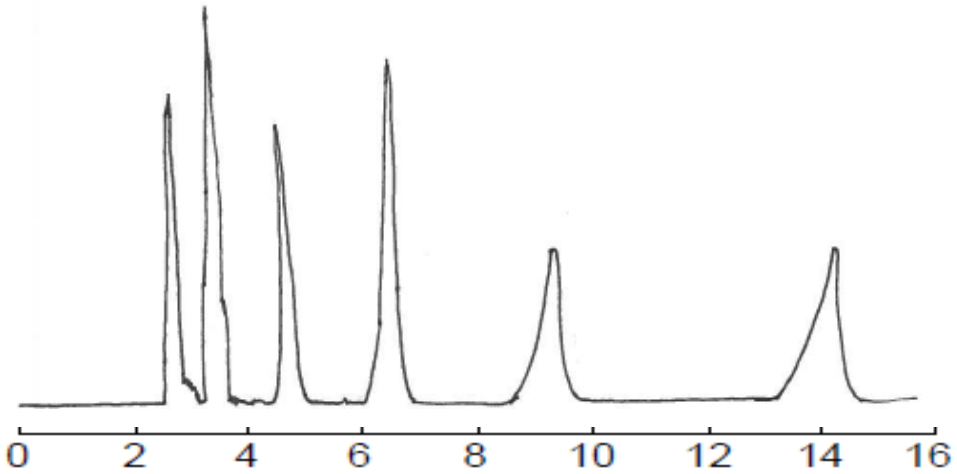
- Amoxicilline
- Ampicilline
- Pipéracilline
- Pénicilline
- Oxacilline
- Cloxacilline



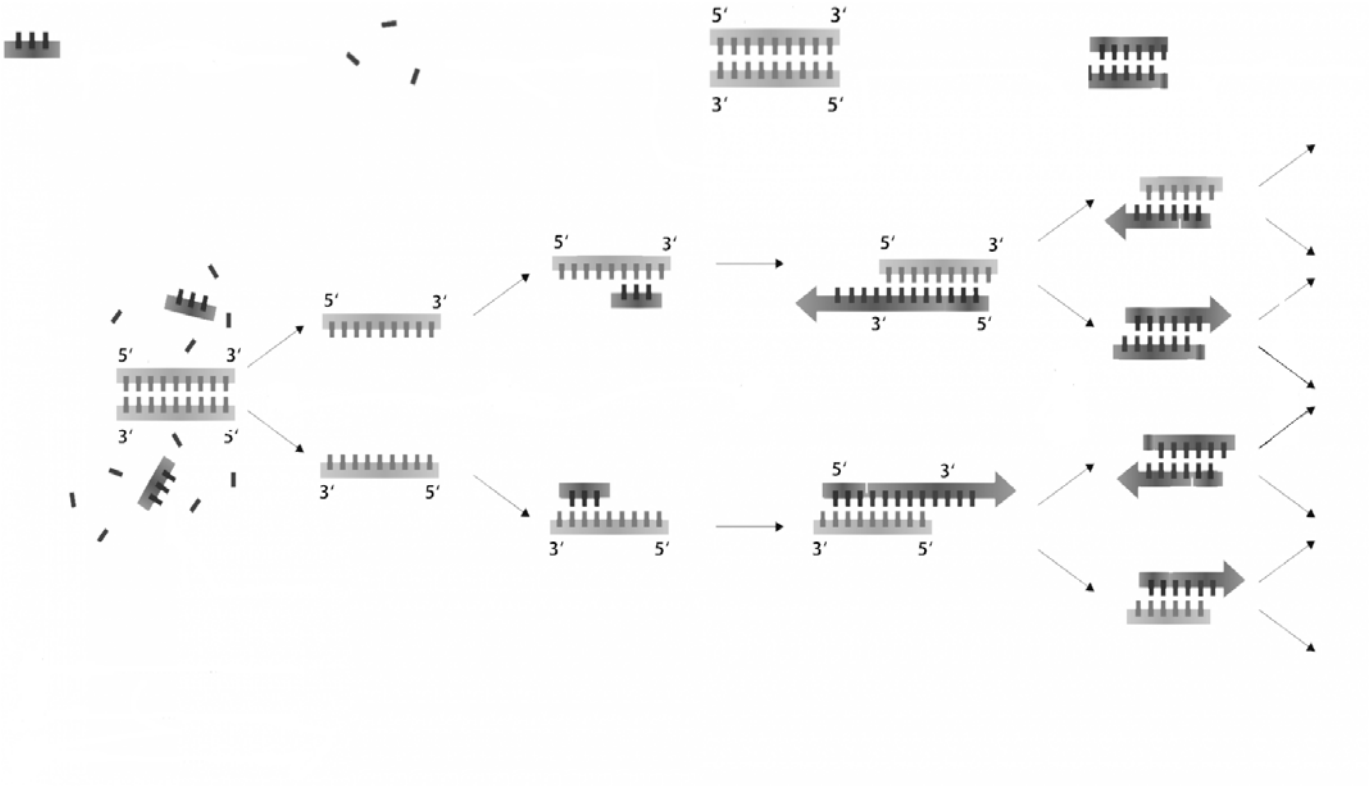
Jeu de paramètres B



Jeu de paramètres C



DOCUMENT 9
Schéma des étapes de la PCR



D'après www.http://droguet-sebastien.e-monsite.com/pages/activites-technologiques-terminale-2014-2015/at27-pcr.html

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

NOM :

(EN MAJUSCULES)

Prénoms :

Date de naissance :

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

EPREUVE :

Centre d'épreuve :

Date :

N° ne rien inscrire

N° ne rien inscrire

ANNEXE A ***(à compléter, numéroter et à rendre avec la copie)***

Compléter le tableau comparatif des méthodes de recherche de *Salmonella*

Techniques	Test AQMC	RAPID'*Salmonella*	VIDAS *Salmonella*
Principe			
Durée d'analyse			
Équipements nécessaires			
Types de résultats obtenus			
Certification			