SESSION 2021
Métropole

BACCALAURÉAT PROFESSIONNEL
E5 TECHNIQUES PROFESSIONNELLES

Intitulé : 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

Les rillettes de thon « Bonton »

L'entreprise Bonton est spécialisée dans la fabrication des rillettes au thon sous vide, cuites dans leur emballage. L'entreprise possède un laboratoire de contrôle qualité qui a notamment pour mission d'analyser les produits finis et de gérer les réclamations des clients en cas de non-conformités.

Vous travaillez en tant que technicien(ne) dans ce laboratoire de contrôle qualité et vous avez notamment comme missions les analyses des produits finis au quotidien.

Dans le contexte règlementaire qui concerne cette catégorie de produits, vous effectuez la recherche de présence d'histamine (molécule responsable de toxi-infections alimentaires) sur le produit fini.

La méthode de référence utilisée s'appuie sur la technique HPLC. Dans le but de réduire les coûts, la responsable du laboratoire vous demande de raisonner la mise en place d'une autre méthode d'analyse de routine.

À la suite d'une série de réclamations sur des lots de rillettes de thon, vous devez également justifier le choix d'une méthode d'identification de *Clostridium perfringens* isolés, à partir de ces lots non conformes.

Enfin, dans le but d'identifier l'origine de cette contamination microbienne, vous devez proposer une méthode d'analyse appropriée des surfaces des plans de travail de la chaîne de production

1. Contexte des activités d'analyse (3,5 points)

1.1. Indiquer le secteur d'activités de l'entreprise Bonton.

Le **document 1** est un extrait du cahier des exigences de la FCD (la Fédération des entreprises du Commerce et de la Distribution) en matière de qualité sanitaire.

1.2. Identifier, en vous appuyant sur ce document, **les germes et les composés** à rechercher pour répondre aux exigences de la FCD.

1.3. Présenter l'intérêt de ce document.

2. Contrôle qualité de la rillette de thon - Recherche d'histamine sur un produit fini (7,5 points)

Les intoxications provoquées par l'histamine sont les toxi-infections alimentaires les plus fréquentes liées à la consommation de produits de la pêche.

2.1. Justifier le besoin de rechercher l'histamine dans les rillettes de thon, à l'aide du **document 2.**

Votre laboratoire utilise la méthode de référence qui s'appuie sur la technique HPLC, pour analyser les lots de rillettes de thon.
L'ouverture d'une chaîne de production supplémentaire a multiplié le nombre d'analyses nécessaires. Afin de réduire les coûts, la responsable du laboratoire a décidé d'analyser, dans un premier temps, chaque lot par chromatographie sur couche mince (CCM).
À l'aide des **documents 1 et 3**, répondre aux questions suivantes :

Les techniques HPLC et CCM reposent sur un même principe de séparation.

2.2. Justifier cette affirmation.

La responsable du laboratoire vous demande de formaliser l'utilisation successive de ces deux techniques, à l'aide d'un logigramme.

2.3. Compléter **l'annexe A (à rendre avec la copie après avoir été numérotée)** en citant les avantages des deux techniques mises en œuvre.

En comparaison avec la technique CCM, la technique HPLC est reconnue comme permettant une meilleure répétabilité des résultats.

2.4. Justifier cette affirmation en vous basant sur vos connaissances et vos diverses expériences professionnelles.

3. Analyse microbiologique sur un produit non conforme (3,5 points)

À la suite de plusieurs réclamations de clients impliquant un gonflement de l'emballage, la responsable qualité suspecte la présence de *Clostridium perfringens*. En effet, cette bactérie anaérobie produit du dioxyde de carbone (CO_2) qui pourrait être responsable du gonflement constaté.

Vous décidez donc de concentrer vos recherches sur la présence de cette bactérie. Pour cela, vous utilisez le protocole s'inspirant de la norme ISO 7937 donné dans le **document 4**. Le protocole est constitué de 2 étapes.

3.1. Indiquer la nécessité de la 2ème étape, en vous aidant du **document 4**.

Pour cette 2ème étape, vous avez le choix entre 3 méthodes. Votre responsable vous impose l'utilisation de la galerie biochimique, type galerie API®, pour confirmer la présence de colonies de *Clostridium perfringens.*

3.2. Justifier le choix de cette méthode en indiquant 2 critères techniques pertinents.

4. Analyse de l'origine des non-conformités (5,5 points)

La mise en œuvre des analyses précédentes a confirmé l'hypothèse d'une contamination à *Clostridium perfringens*.

L'Homme sain peut être porteur de *C. perfringens* dans son tube digestif à hauteur de 10 à 10^3 bactéries par gramme de contenu. Il est donc décidé d'effectuer une recherche des coliformes fécaux comme marqueur de contamination, sur les plans de travail de la chaîne de production.

Au sein de l'entreprise, le laboratoire réalise déjà des contrôles d'hygiène en utilisant la technique d'ATPmétrie (Voir **document 5)**.

4.1. Justifier en quoi l'utilisation de l'ATPmétrie n'est pas pertinente dans ce contexte.

Votre fournisseur propose l'utilisation de lames gélosées flore totale/coliformes présentées dans le **document 6.**

En vous aidant de la composition des 2 milieux présents sur ces lames :

4.2. Choisir, en justifiant votre réponse, quelle face de la lame sera utilisée pour répondre à votre besoin.

4.3. Préciser les modalités de lecture de la face choisie, en les expliquant.

DOCUMENT 1

Extrait des exigences de la Fédération du Commerce et de la Distribution (FCD)

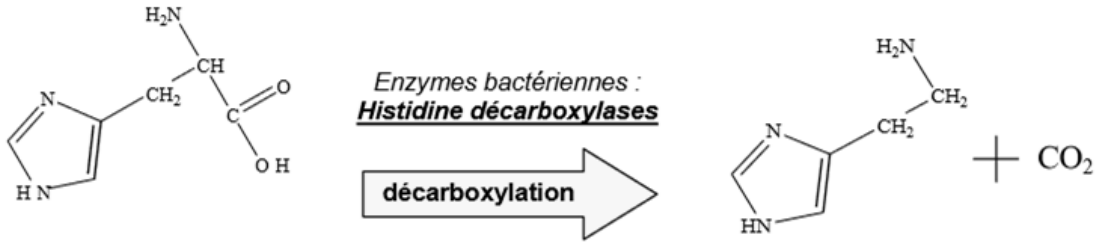
Denrée	Germe /composé	Critère règlement Européen 2073 - 2005	Critère de la FCD
1. Plats cuisinés sous vide cuits dans leur emballage primaire final avec un barème au moins équivalent à 70°C, 2 min à cœur. Ne pas placer dans cette catégorie des produits remanipulés après cuisson ou même conditionnés à chaud. Cette catégorie contient également les charcuteries cuites de poisson et rillette de poisson.	**Flore aérobie 30°C**	**/**	**10 000 UFC / g**
		/	
		/	
	Clostridium perfringens	**/**	**10 UFC / g**
	Bacillus cereus	**/**	**100 UFC / g**
	Histamine	**/**	**200 mg / kg**
2. Filets de poissons crus, frais ou surgelés	**ABVT**	**/**	**À rechercher**
	Escherichia coli	**/**	**10 UFC / g**
	Staphylocoques coag +	**/**	**100 UFC / g**
	Salmonella	**/**	**Non détecté /25g**
	Vibrio pathogènes	**/**	**Non détecté /25g**
	Listeria monocytogenes	**Non détecté pour 25g**	**100 UFC / g**
	Histamine	**200 mg / kg**	**200 mg / kg**

UFC : Unité Formant Colonie

DOCUMENT 2

Formation de l'histamine dans le poisson

L'histamine est une amine biogène produite après la mort du poisson sous l'action de certaines bactéries. Ces dernières produisent une enzyme qui va transformer l'histidine qui est un acide aminé présent à forte teneur dans certains poissons. L'histidine peut se trouver sous forme libre mais aussi sous forme liée dans les pigments tels que l'hémoglobine et la myoglobine.



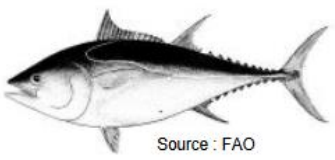
Histidine **Histamine**

Les microorganismes responsables de la formation de l'histamine se développent principalement à des températures supérieures à 10°C dans les ouïes et les viscères du poisson. Cependant, de récentes recherches ont montré que certaines bactéries productrices d'histamine étaient actives entre 0 et 5°C.

Espèces concernées :

Certaines familles de poissons sont riches en histidine et présentent donc un plus grand risque de contenir de l'histamine. Ce sont :

- Les Clupéidés : sardines, hareng…
- Les Engraulidés : anchois…
- Les Scombridés : thon (toutes espèces), maquereau, bonite…
- Les Coryphénidés : coryphène commune (mahi-mahi)…
- Les Pomatomidés : tassergal…
- Les Scomberesocidés : orphie…
- Les Xiphiidés et Istiophoridés : l'espadon, le marlin…



Source : FAO

DOCUMENT 2 (suite et fin)

Quelques conseils pour éviter sa formation :

- Saigner et rincer le poisson soigneusement (car le sang contient de l'histidine, le précurseur de l'histamine).
- Éviscérer (car de nombreuses bactéries sont présentes dans les viscères) et rincer efficacement le poisson, puis le réfrigérer ou le congeler le plus rapidement possible.
- Ne pas rompre la « chaîne du froid », aussi bien lors de la capture que lors de la transformation, du conditionnement puis de la commercialisation.
- Respecter les bonnes conditions d'hygiène pour éviter toute croissance des germes naturellement présents dans le poisson et toute contamination extérieure.
- En cas de congélation : décongeler le poisson rapidement et l'utiliser aussitôt.
- Le mode de conditionnement (notamment l'emballage sous atmosphère modifiée) peut diminuer la formation d'histamine pour quelques espèces de poissons.
- Ni la cuisson, ni la mise en conserve, ni la congélation ne détruisent l'histamine car c'est une molécule thermostable.
- Le salage et le fumage n'inhibent pas toujours le développement des bactéries responsables de la formation d'histamine.
- Une fois que l'enzyme favorisant la formation de l'histamine a été libérée par les bactéries, la réfrigération ne diminue pas son activité (d'où l'importance de ne pas rompre la chaîne du froid).

D'après http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/fiche_synthese_histamine.pdf

DOCUMENT 3

Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)
Méthode de référence pour l'Union Européenne

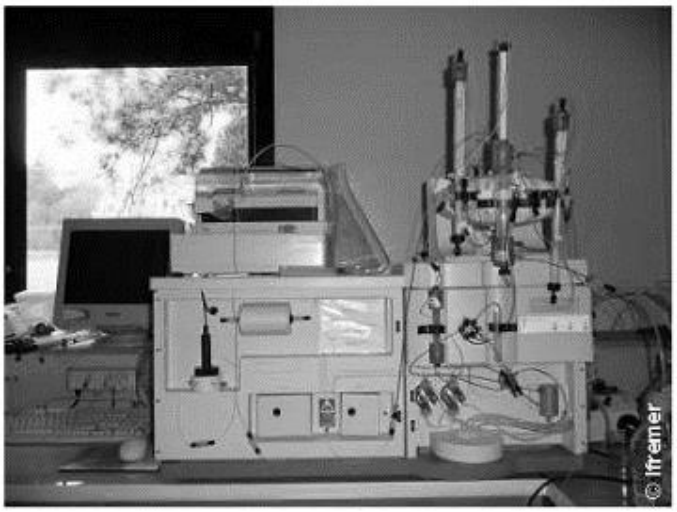
Comme toutes les chromatographies, cette méthode vise à séparer les constituants d'un mélange et repose sur l'utilisation d'une phase mobile et d'une phase stationnaire. L'HPLC repose sur la circulation d'un fluide (phase mobile) dans une colonne (phase stationnaire).

Les amines biogènes, telle que l'histamine, sont d'abord extraites de l'échantillon à tester puis on pratique une dérivation de ces amines. La solution à tester est ensuite injectée dans la colonne où les constituants vont être retenus inégalement en fonction de leur taille et de leur composition. Ils vont donc mettre plus ou moins de temps à la parcourir.

Le fluide est récupéré à la sortie de la colonne. On peut alors déterminer la quantité et le type de constituants dans le fluide, car ils arrivent les uns après les autres dans le récipient, à l'aide de méthodes de détection précises, en général par fluorimétrie.

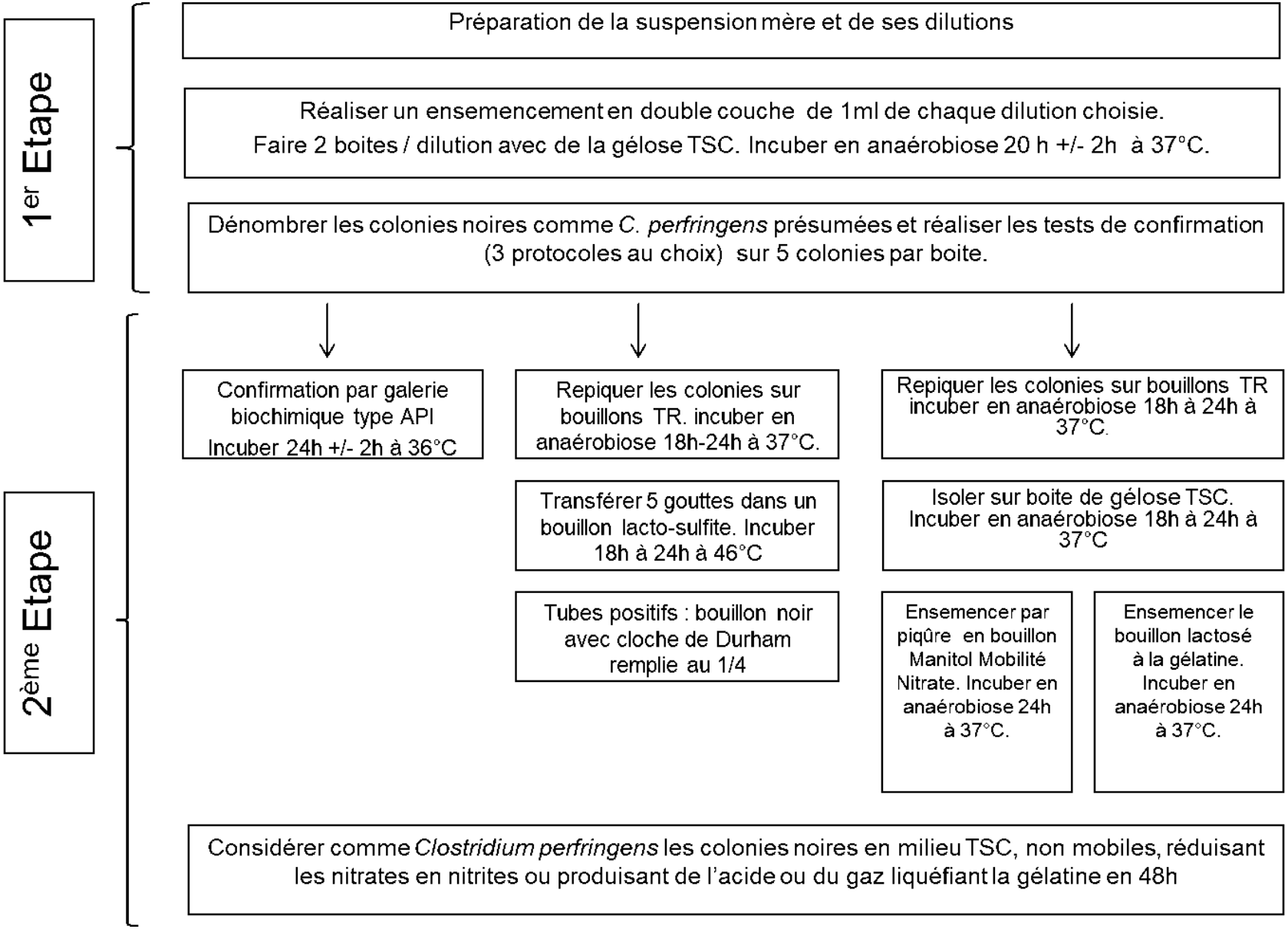
Les résultats sont exprimés en mg / kg.

Cette méthode est très précise, sensible et reproductible. Cependant, elle nécessite un équipement sophistiqué, donc cher, et du personnel spécifiquement formé à ce matériel.



Extrait de Ifremer – Octobre 2008 – Fiche réalisée pour Bibliomer

DOCUMENT 4 : D'après la méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens* (Norme NF EN ISO 7937)



DOCUMENT 5

Présentation d'une méthode d'analyse de surfaces

L'ATPmétrie

L'ATP (Adénosine Triphosphate) est une molécule porteuse d'énergie présente dans tous les organismes vivants, animaux, plantes, y compris dans les moisissures, les bactéries et les levures.

Ainsi, la mesure de l'ATP sur les surfaces est un moyen rapide et efficace pour déterminer ou apprécier l'efficacité du nettoyage.

L'ATP provenant de l'échantillonnage de surface se mélange avec l'enzyme luminescente (Luciférase), cette réaction produit de la lumière et est appelée ATP bioluminescence. L'intensité de la lumière émise est quantifiée par un luminomètre qui donne une valeur en RLU (Unité de lumière relative).

Le test d'ATPmétrie ne se substitue pas au test microbiologique, il intervient comme une méthode de contrôle intermédiaire et donc d'alerte précoce permettant de prendre des mesures correctives si nécessaire.

Il permet d'identifier les endroits critiques et donne une réponse très rapide (en 15 secondes)

D'après https://sopac.com/produits/category/96-instrument-de-controle-de-l-hygiene-des-surfaces-par-atpmetrie. Image extraite de https://www.ereinc.com/Browse/Product/6797/LATP-m%C3%A9trie-quantitative-de-la-marque-DENDRIDIAG-BF-surface?culture=CA&lang=fr



DOCUMENT 6

Présentation d'une méthode d'analyse de surfaces



Lame gélosée double face

Les techniques de contrôle microbiologique des surfaces reposent sur le principe de la récupération par contact et la mise en culture des contaminants (bactéries, levures...).

Les lames double face sont composées d'une part d'un milieu non sélectif PCA et d'autre part d'un milieu sélectif VRBL dont les compositions sont indiquées ci-dessous.

Les lames gélosées seront incubées à 44 +/- 1°C pendant 24h +/- 2h.

Composition du milieu VRBL	Rôle des composants
Peptone : 7 g/L	Source d'azote…
Extrait de viande : 3 g /L	Source de facteur de croissance…
Lactose : 10 g/L	Source d'énergie – indicateur de lecture des coliformes.
Désoxycholate de sodium : 1,5 g/L	Inhibiteur de bactéries non intestinales.
Cristal violet : 2 mg/L	Inhibiteur des bactéries à Gram positif.
Rouge neutre : 30 mg/L	Indicateur coloré de pH : Rouge de pH 0 à pH 7. Virage orange entre pH 7 et 8. Jaune de pH 8 à pH 14.
Chlorure de sodium : 5 g/L	Isotonie du milieu / sels minéraux.
Agar : 15 g/L	Gélifiant.
pH 6,8	

Composition du milieu PCA	Rôle des composants
Digestat enzymatique de caséine (peptone) : 5 g/L	Source d'azote et de carbone.
Extrait de levure : 2,5 g/L	Source de carbone, d'énergie, facteur de croissance…
Glucose : 1 g/L	Source d'énergie.
Agar : 15 g/L	Gélifiant.
Eau : qsp 1 L	Solvant/eau.
pH 7	

D'après « https://www.humeau.com/media/blfa_files/ME_lames-gelosees_FR_070916.pdf »
«https://www.hygialim.com/lames-gelosees-pour-autocontrole_70-919-1-1789-1-5019.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

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

N° ne rien inscrire

Procédure de la recherche de l'histamine dans les rillettes de thon

