REMPLACEMENT 2020
Métropole

BACCALAURÉAT PROFESSIONNEL
E5 TECHNIQUES PROFESSIONNELLES

Intitulé : Laboratoire contrôle qualité

Durée : 180 minutes

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

Le sujet comporte 14 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

Qualité d'une eau d'abreuvement*

« L'eau est le principal aliment des ruminants. Une vache, par exemple, peut boire plus de 90 litres d'eau par jour. Une eau impropre à l'abreuvement* va avoir rapidement des conséquences sur la santé du troupeau. »

D'après « Qualité des eaux d'abreuvement POURQUOI ? COMMENT ? »
Dossier Alliance-élevage janvier 2010

Un éleveur de vaches laitières qui a constaté quelques problèmes de croissance et de diarrhées chez ses bovins, souhaite vérifier la qualité de l'eau de son puits. Il fait appel à son laboratoire vétérinaire.

Ce dernier lui propose de réaliser un certain nombre d'analyses, afin de mettre en évidence l'origine des problèmes rencontrés.

Technicien(ne) dans ce laboratoire, vous participez à cette étude en mettant en œuvre :

- des contrôles bactériologiques, notamment la recherche des entérocoques intestinaux ;
- le dosage des nitrates.

* L'abreuvement consiste à fournir de l'eau aux animaux d'élevage afin qu'ils puissent boire.

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

1.1. Citer et définir le secteur professionnel auquel appartient le laboratoire vétérinaire.

1.2. Justifier que les analyses proposées par le laboratoire vétérinaire s'orientent vers la détermination des concentrations en nitrates et en entérocoques intestinaux, à l'aide du **document 1**.

Le **document 2** présente les critères de qualité de l'eau d'abreuvement retenus par le Groupement de Défense Sanitaire.

1.3. Justifier, d'après les éléments du contexte, l'intérêt pour l'agriculteur d'avoir une qualité de l'eau d'abreuvement destinée aux bovins respectant ces critères.

2. Contrôles bactériologiques (9 points)

Pour la recherche des entérocoques, le laboratoire utilise la méthode de référence par filtration NF EN ISO 789 (**document 3**).

2.1. Expliquer le principe de cette méthode.

2.2. Donner l'intérêt de l'étape de confirmation.

Le **document 4** donne la composition des milieux Slanetz et Bartley et BEA.

2.3. Repérer les inhibiteurs présents dans ces milieux.

Vous obtenez quelques colonies caractéristiques sur milieu BEA.

2.4. Préciser l'aspect de ces colonies.

Pour savoir si ces entérocoques peuvent être responsables des diarrhées, vous réalisez un test d'agglutination. Le **document 5** présente ce test.

2.5. Expliquer le principe de ce test d'agglutination à l'aide d'un schéma.

Le responsable du laboratoire souhaite passer à une méthode alternative. Il se demande s'il serait judicieux d'investir dans des techniques plus rapides. Il hésite entre 2 techniques utilisables pour l'analyse de l'eau qu'il vous demande d'étudier :

- filtration sur milieu chromogène ;
- méthode NPP (Nombre le Plus Probable) sur plaque.

Les **documents 6 et 7** présentent ces méthodes pour les entérocoques.

Ces deux méthodes (Enterolert et milieu Compass) mettent en évidence une enzyme spécifique des entérocoques : la β-glucosidase grâce à des substrats chromogéniques.

2.6. Indiquer ce qu'est un substrat chromogénique.

2.7. Comparer ces deux méthodes avec la méthode de référence sous forme d'un tableau présentant au moins 4 critères de votre choix.

2.8. Indiquer, en justifiant, la méthode qui vous semble la plus adaptée.

3. Dosage des nitrates par spectrophotométrie UV-visible (8 points)

Afin de doser les nitrates dans l'eau du puits de l'agriculteur, le laboratoire vétérinaire utilise la méthode spectrométrique au salicylate de sodium (méthode ISO 7890-3). Cette méthode est résumée dans le **document 8**.

3.1. Légender le schéma de **l'annexe A (à rendre avec la copie après avoir été numérotée)** avec les expressions indiquées ci-dessous :

Fente – Solution – Afficheur – Amplificateur – Cuve – Détecteur – Monochromateur – Lampe

3.2. Expliquer comment et pourquoi la valeur de 415 nm a été choisie pour la longueur d'onde pour réaliser les mesures de l'absorbance.

Afin de réaliser l'analyse de l'eau du puits, vous réalisez préalablement sa filtration.

3.3. Justifier cette opération.

3.4. Faire un schéma du dispositif de filtration sous vide, à l'aide d'une trompe à eau.

Analyse spectrophotométrique.

3.5. Donner le rôle du flacon T, mis en évidence dans le tableau du **document 8**.

3.6. Indiquer l'intérêt de préparer les flacons de I à V présentés dans le tableau du **document 8.**

3.7. Justifier la dilution de l'eau du puits si sa teneur en nitrates est supérieure à 50 $mg.L^{-1}$.

Après analyse, on obtient un résultat de 60 $mg.L^{-1}$.

3.8. Justifier, à l'aide du **document 2,** l'intérêt de disposer de cette information pour l'agriculteur.

Pour le dosage des nitrates de l'eau de son puits, l'agriculteur peut mettre lui-même en œuvre une autre méthode décrite dans le **document 9**.

3.9. Il s'agit d'une méthode semi-quantitative, justifier ce qualificatif.

3.10. Justifier en quoi la mise en œuvre de cette méthode serait pertinente.

DOCUMENT 1

Conséquences des non-conformités sur la santé et la production des animaux

Types de non-conformités	Agneaux Chevreaux Veaux	Ovins Caprins Bovins adultes	Equins
Bactériologique	Diarrhées Toux Abcès	Mammites, Métrites, Diarrhées, Panaris, Boiteries, Qualité du lait	Diarrhées, Problèmes respiratoires, Abcès
pH TH (dureté)	**pH et TH élevés** Mauvaise assimilation, Constipation, Anémie **pH et TH bas** Diarrhées Coloration viande	**pH et TH bas** Problèmes de reproduction Carence en calcium	**pH** Peu d'incidence **TH élevé** Problème rénaux, Problèmes hépatiques
Nitrates	Mortalité, Problèmes respiratoires et digestifs, Croissance lente	Problème de reproduction, troubles nerveux, Mauvaise assimilation des minéraux et vitamines, Problème de croissance	Problèmes hépatiques, rénaux et de reproduction Mauvaise assimilation des minéraux et vitamines. Problèmes nerveux et de croissance.
Fer	Coloration de la viande	Peu d'incidence	Peu d'incidence

D'après « Qualité des eaux d'abreuvement POURQUOI ? COMMENT ? »
Dossier Alliance-élevage janvier 2010

DOCUMENT 2

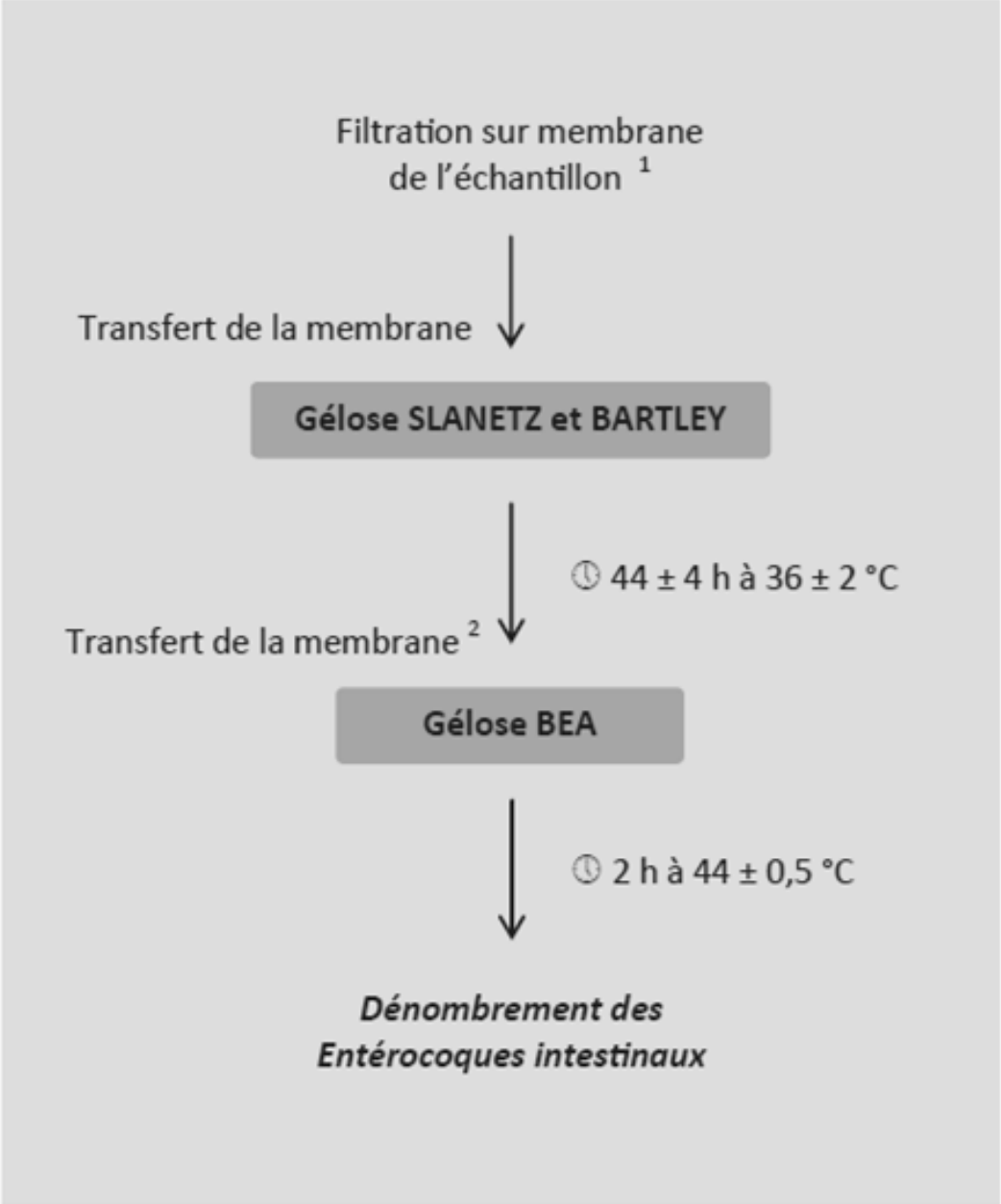
Limites de tolérance pour la qualité de l'eau d'abreuvement retenues par le Groupement de Défense Sanitaire 44

	Micro-organismes revivifiables à 22°C (UFC/mL)	**Coliformes totaux** (UFC/100mL)	***E. coli*** (UFC/100mL)	**Entérocoques intestinaux** (UFC/100mL)	**Nitrates + Nitrites** (mg/L)
Eau potable	< 100	0	0	0	< 50
Eau acceptable	101 à 200	1 à 10	1 à 5	1 à 5	50 à 100
Eau de mauvaise qualité	201 à 300	11 à 50	6 à 20	6 à 30	50 à 100
Eau de très mauvaise qualité	> 300	> 50	> 20	> 30	> 100

Source « État des lieux des pratiques et recommandations relatives à la qualité sanitaire de l'eau d'abreuvement des animaux d'élevage –ANSES »

DOCUMENT 3

Méthode par filtration sur membrane - NF EN ISO 7899-2 : 08-2000



[1] Filtrer le volume d'eau approprié au type d'eau examiné.

[2] Transférer la membrane sur le milieu de confirmation (Gélose BEA), en présence de colonies caractéristiques de couleur rouge, marron ou rose au centre ou sur l'ensemble de la colonie.

DOCUMENT 4

Composition des milieux Slanetz et Bartley et BEA

GELOSE DE SLANETZ ET BARTLEY

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.
Pour 1 litre de milieu complet :
- Tryptose ..... 20,0 g
- Extrait autolytique de levure ..... 5,0 g
- Glucose ..... 2,0 g
- Phosphate dipotassique ..... 4,0 g
- Azide de sodium ..... 0,4 g
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium (TTC*) ..... 0,1 g
- Agar agar bactériologique ..... 10,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,2 ± 0,2.

* Le TTC (chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium) est un indicateur de la croissance bactérienne. Incolore à l'origine, il est réduit en formazan insoluble à l'intérieur de la cellule. Cette réaction se manifeste par l'apparition de colonies de couleur rouge à marron.

GELOSE BEA (BILE, ESCULINE ET AZOTURE)

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.
Pour 1 litre de milieu :
- Tryptone ..... 17,00 g
- Peptone pepsique de viande ..... 3,00 g
- Extrait autolytique de levure..... 5,00 g
- Bile de boeuf bactériologique ..... 10,00 g
- Chlorure de sodium..... 5,00 g
- Esculine*..... 1,00 g
- Citrate ferrique ammoniacal ..... 0,50 g
- Azide de sodium..... 0,15 g
- Agar agar bactériologique..... 13,00 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,1 ± 0,1.

* Les entérocoques hydrolysent l'esculine en glucose et en esculétine. Ce dernier composé forme un complexe noir en présence des ions ferriques apportés par le citrate de fer.
En cas de forte contamination, le milieu peut devenir entièrement noir.

DOCUMENT 5

Test d'agglutination

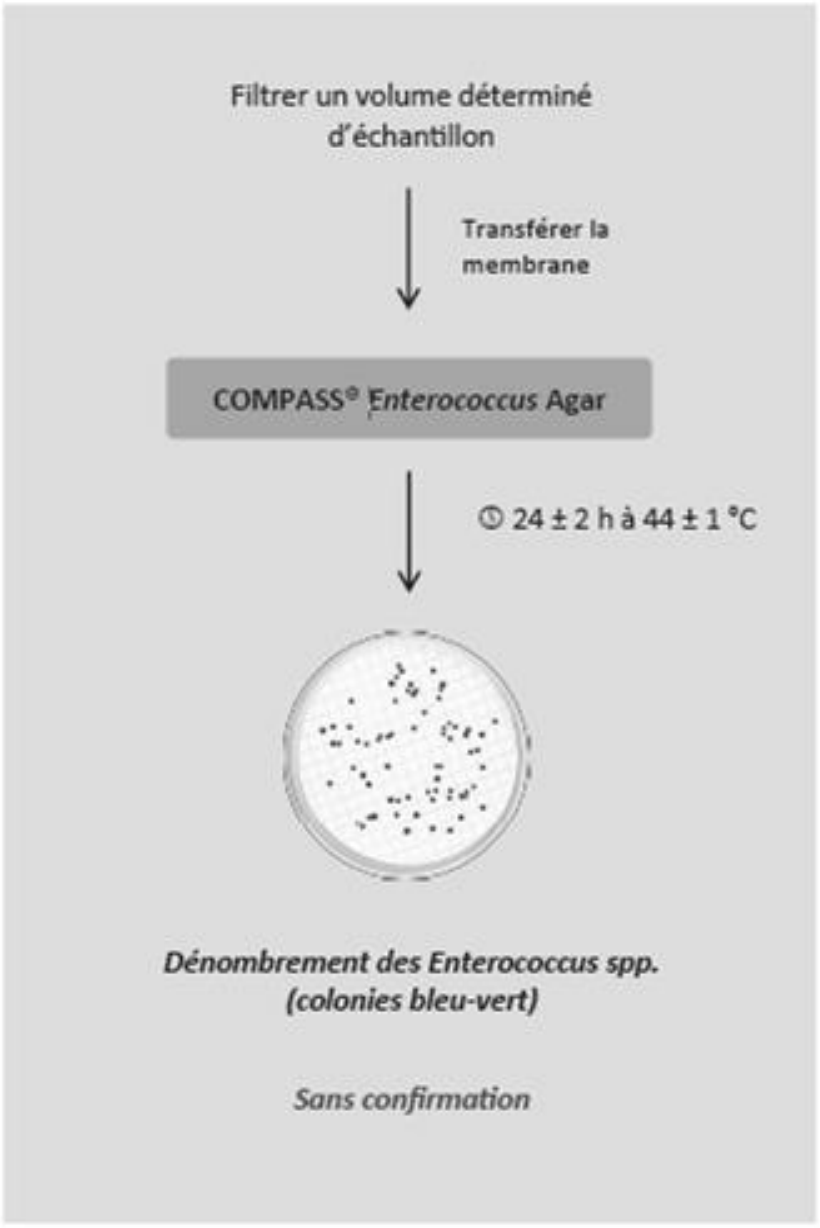
Le test Vetorex™ est un test d'agglutination rapide pour identifier les streptocoques et les entérocoques. Le test comporte des suspensions de latex spécifiques. Certains de ces germes sont systématiquement associés à des pathologies cliniques, tandis que d'autres sont des organismes commensaux des muqueuses buccales, génitales ou intestinales et ne sont pathogènes que lorsqu'ils se trouvent en dehors de leur milieu naturel.

L'identification des antigènes spécifiques par des antisérums homologues nécessite une extraction enzymatique préalable.
L'antigène présent dans l'extrait obtenu est identifié à l'aide de particules de latex recouvertes d'anticorps spécifiques. Les particules de latex s'agglutinent en présence de l'antigène homologue. En l'absence de l'antigène, elles restent en suspension homogène.

Document créé pour les besoins de l'épreuve

DOCUMENT 6

Filtration sur milieu chromogène : COMPASS Enterococcus Agar



www.biokar-diagnostics.fr

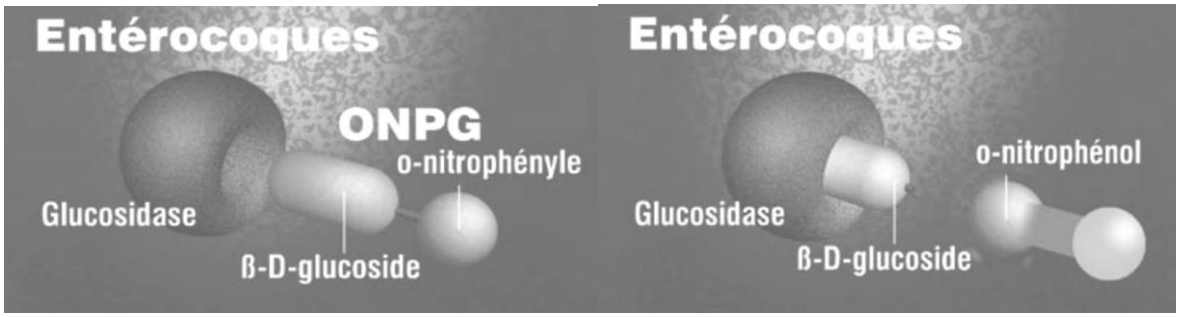
DOCUMENT 7

Méthode NPP : Enterolert-DW

Enterolert-DW donne une réponse fiable sur la présence d'entérocoques :
Détecte avec précision les entérocoques présents dans l'eau potable, en 24 heures.

Le nouveau test Enterolert-DW fait appel à la technologie brevetée d'IDEXX Defined Substrate Technology (DST) pour détecter les entérocoques dans l'eau potable.

Enterolert-DW utilise un nutriment, l'ortho-nitrophényl-ß-Dglucoside, comme indicateur et sa formule incorpore un fond bleu spécialement conçu. Lorsque les entérocoques métabolisent le substrat, l'échantillon passe du bleu au vert indiquant ainsi qu'il est positif.



<u>DOCUMENT 7</u> (suite et fin)

Protocole



Ajouter le réactif à l'échantillon



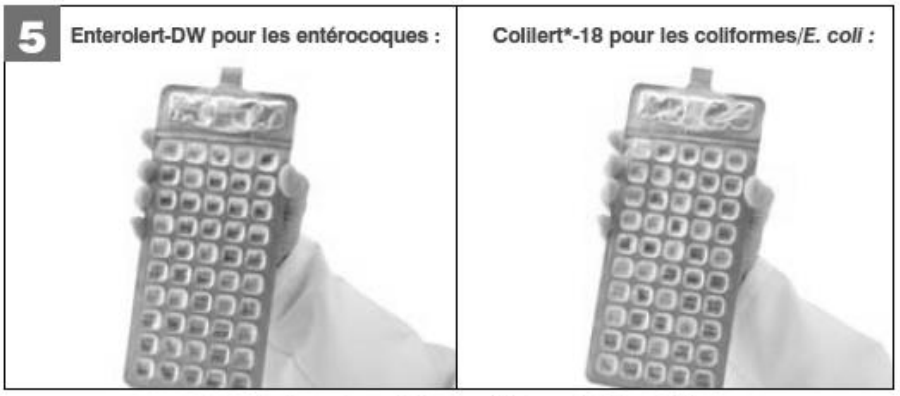
Fermer le récipient et agiter pour mélanger



Verser le mélange échantillon-réactif dans un plateau



Fermer hermétiquement le plateau et laisser incuber



Compter les puits positifs et se référer au tableau NPP.

www.humeau.com

DOCUMENT 8

Méthode au salicylate de sodium

INSTITUT FRANÇAIS DE L'ÉDUCATION
Plateforme ACCES - Eduterre

DOSAGE DES NITRATES

Méthode au salicylate de sodium

Les dosages colorimétriques sont perturbés par la présence de matières en suspension dans l'eau. Il est donc préférable de filtrer les échantillons d'eau avant les mesures, si possible sur entonnoir de Büchner avec un filtre en microfibres de verre.

Matériel

- Colorimètre
- Le cas échéant, fiole de filtration de Büchner branchée sur une trompe à vide

Préparations des dosages

Pour éviter toute contamination, il est recommandé de rincer la verrerie et les pipettes à l'acide chlorhydrique à 5 % puis à l'eau distillée.

- **Solution stock de nitrate de potassium** (50 $mg.L^{-1}$ d'ions nitrates)

Dissoudre 0,0815 g de nitrate de potassium anhydre dans 990 mL d'eau distillée, ajouter 1 mL de chloroforme (conservateur) et compléter à 1 litre avec de l'eau distillée.

- **Solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium**

Dissoudre progressivement 40 g de soude et 6 g de tartrate double de sodium et de potassium dans 100 mL d'eau distillée.

Attention : *la dissolution de l'hydroxyde de sodium dans l'eau dégage beaucoup de chaleur.*
D'autre part, la quantité dissoute en fait une solution extrêmement corrosive.

- **Solution de salicylate de sodium à 0,5 % (à préparer extemporanément)**

Dissoudre 0.5 g de salicylate de sodium dans 100 mL d'eau distillée

Etablissement de la droite étalon

1. Dans une série de flacons de 60 mL, introduire successivement :

Numéro des flacons	I	II	III	IV	V
Solution stock de nitrate de potassium à 50 $mg.L^{-1}$ d'ions nitrates (mL)	0	2	4	6	8	10
Eau distillée (mL)	10	8	6	4	2	0
Solution de salicylate de sodium (mL)	1	1	1	1	1	1
Concentration en ions nitrates en $mg.L^{-1}$	0	10	20	30	40	50

2.Evaporer chaque flacon à sec au bain-marie ou dans une étuve portée à 75-80 °C (ne pas surchauffer, ni chauffer trop longtemps).
3. Laisser refroidir.
4. Reprendre le résidu par 2 mL d'acide sulfurique concentré en ayant soin de l'humecter complètement. Attendre 10 minutes.
5. Ajouter 15 mL d'eau distillée puis 15 ml de la solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium qui développe la couleur jaune.
6. Mesurer l'absorbance de chaque échantillon au colorimètre (longueur d'onde : 415 nm) et construire le graphique représentant l'absorbance en fonction de la concentration en nitrates (**A = f [nitrates]**)

Dosage dans l'échantillon

1. Introduire 10 mL d'eau à analyser dans un récipient de 60 mL (pour des teneurs en nitrate supérieures à 50 $mg.L^{-1}$, opérer une dilution).
2. Alcaliniser faiblement avec la solution d'hydroxyde de sodium.
3. Ajouter 1 mL de solution de salicylate de sodium puis poursuivre le dosage comme pour la procédure d'étalonnage à partir du point 2.
4. Effectuer la lecture au colorimètre (longueur d'onde : 415 nm).
5. Déterminer graphiquement la concentration en nitrates dans l'échantillon à partir de la droite d'étalonnage.

D'après http://eduterre.ens-lyon.fr/thematiques/hydro/travail-coop/protocoles/analysesPC/dos-nitr

DOCUMENT 9

Méthode de dosage des ions nitrate/nitrite en solutions par utilisation de kits de bandelettes dédiées



Nitrates	
Domaines de mesure	**0 à 500 mg.L^{-1}**
Echelle de mesures	**0·10·25·50·100·250·500 mg/l**

Description

Bandelettes de test semi-quantitati...
10384071
54,95 € / 100 pièces

Bandelette semi-quantitative Quantofix™
- Pour le terrain ou le laboratoire
- Test rapide par comparaison de couleur
- Boîtes de 100 bandelettes 6 x 95mm dont la couleur varie en fonction de la concentration de l'ion
- A comparer avec une échelle de couleur imprimée sur la boîte
- Simple et rapide: immerger puis lire
- Réactif breveté pour analyses semi-quantitatives rapides
- Précision accrue et lecture directe en mg/L
- Couvercle du tube muni d'une cartouche dessiccante assurant une conservation supérieure à 2 ans (à +30°C)
- Idéal pour une analyse de terrain ou de laboratoire
- Quantofix™

Source : https://www.fishersci.fr/shop/products/quantofix-nitrate-nitrite-semi-quantitative-test-strips

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

NOM :

(EN MAJUSCULES)
Prénoms :

Date de naissance :

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

EPREUVE :

Centre d'épreuve :

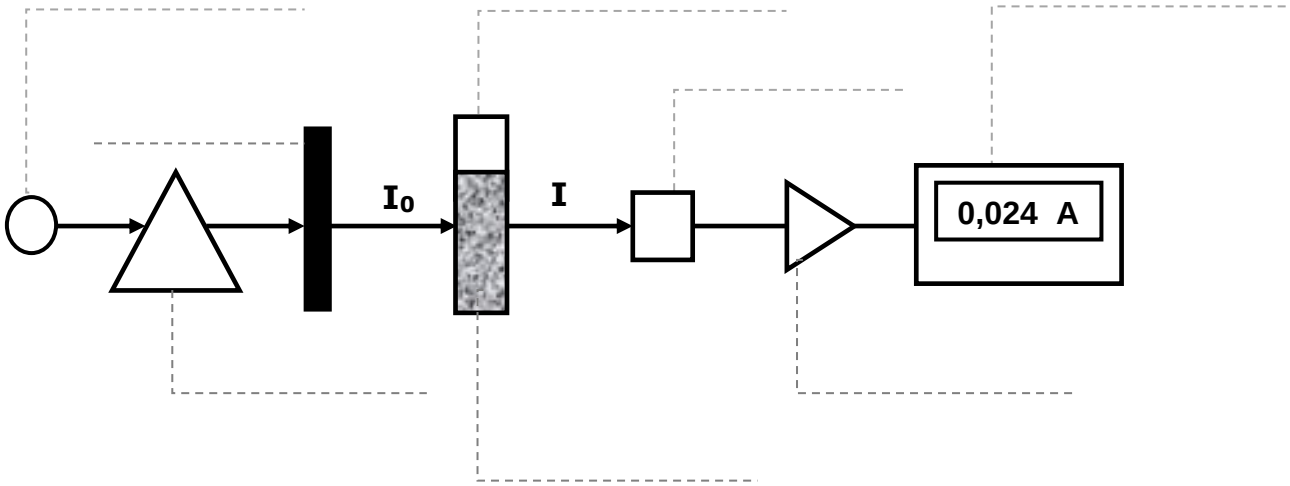
Date :

N° ne rien inscrire

N° ne rien inscrire

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

Représentation schématique d'un spectrophotomètre UV-visible



Source modifiée d'après https://www.researchgate.net/figure/Schema-de-principe-du-spectrophotometre-UV-Visible

Légender le schéma avec les expressions indiquées ci-dessous :

Fente – Solution – Afficheur – Amplificateur – Cuve – Détecteur – Monochromateur – Lampe