BACCALAURÉAT PROFESSIONNEL
E5 TECHNIQUES PROFESSIONNELLES

Option : Laboratoire contrôle qualité

Durée : 3 heures

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

Le sujet comporte 9 pages

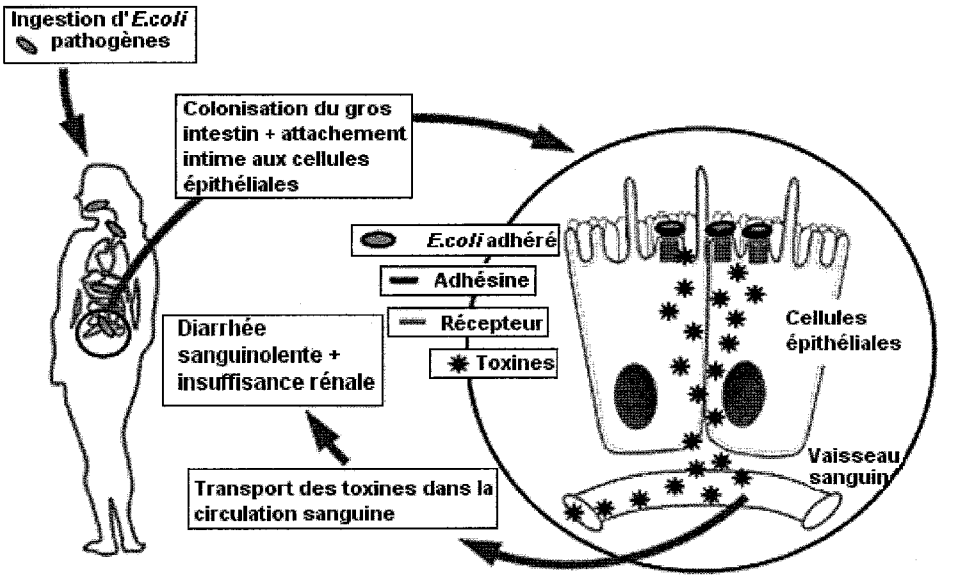
Les annexes A et B sont à rendre avec la copie

SUJET

E.coli entérohémorragique

1) Le contexte

« La dernière crise alimentaire grave qui a frappé l'Europe remonte au printemps dernier. Une nouvelle souche très toxique de bactéries Escherichia coli (O104 : H4) suspectées d'abord dans les concombres espagnols puis détectées finalement dans des graines germées bio venant d'Égypte - a fait en tout 52 morts en Allemagne. », ***d'après « Le Figaro.fr », sept 2011.***



11) A partir de l'extrait du « *Figaro* » et du schéma ci-dessus, identifier :

a) les produits qui ont été impliqués dans cette crise sanitaire ;

b) les symptômes des intoxications à *E.coli 0104 : H4 ;*

c) les dangers pour la santé humaine.

12) Nommer le secteur professionnel touché par cette crise.

« Les pathogènes émergents représentent une menace commerciale pour les industriels. C'est pourquoi ces derniers se tournent de plus en plus vers les laboratoires privés afin qu'ils analysent des échantillons et vérifient que les produits commercialisés sont conformes à la réglementation. En Europe, l'industriel est responsable du produit qu'il commercialise. "Les autocontrôles se multiplient. C'est avant tout de la prévention", explique Jean-Yves Denis, directeur du pôle microbiologie. C'est seulement en cas de crise que les pouvoirs publics interviennent directement. En routine, ils s'assurent que les industriels effectuent des contrôles. », ***d'après « Le Figaro.fr », sept 2011.***

13) Nommer le règlement européen qui rend tout producteur responsable de sa production. Citer 3 principaux outils qu'il préconise.

Après cette crise, un groupement de producteurs de concombre a décidé de mener un programme d'autocontrôles sur ces légumes et sur l'eau utilisée pour la production. Ces analyses sont confiées à des laboratoires agréés. L'objectif est de s'assurer de la qualité sanitaire des produits et de redonner confiance aux consommateurs.

14) Identifier, à l'aide du **document 1**, les étapes de production qui ont pu être à l'origine de la contamination.

15) Définir la qualité sanitaire d'un aliment.

2) Les analyses

Des analyses microbiologiques et chimiques sont réalisées sur l'eau de lavage et les concombres. Les producteurs décident de dénombrer les coliformes et de doser les ions chlorures dans l'eau de lavage.

21) Justifier le choix du dénombrement des coliformes.

22) Le dénombrement microbiologique est réalisé sur l'eau de lavage et les concombres.

22.1) Présenter les différentes techniques de dénombrement possibles.

22.2) Le critère microbiologique pour les coliformes dans l'eau à usage alimentaire est de 0/100 mL. Choisir la technique de dénombrement la plus adaptée à l'analyse de l'eau de lavage des concombres.

Le dénombrement des coliformes dans un produit alimentaire se fait très souvent sur le milieu VRBL dont la composition est donnée dans le **document 2**.

22.3) A l'aide des éléments soulignés, justifier le choix de ce milieu pour ce groupe bactérien.

22.4) Proposer une démarche d'identification d'*E.coli* à la suite de ce dénombrement.

22.5) *E.coli* est dénombrée aussi à l'aide d'un milieu chromogène mettant en évidence la β glucuronidase, enzyme caractéristique d' *E.coli*. : Expliquer le principe de ce milieu chromogène.

23) Le laboratoire veut déterminer la quantité d'élément chlore présent dans l'eau javellisée utilisée pour le lavage des concombres.

La première étape est de transformer les ions hypochlorite ClO^- présents dans l'eau javellisée en ions chlorure Cl^-. Pour cela, on utilise une solution contenant des ions nitrite (NO_2^-).

23.1) Ecrire l'équation de la réaction entre les ions hypochlorite et les ions nitrite, sachant que les ions nitrite sont transformés en ions nitrate NO_3^-.

Les ions chlorure sont alors dosés par la méthode de Mohr présentée dans le **document 3**.

23.2) a) Ecrire l'équation de la réaction entre les ions chlorure et les ions argent Ag^+.
b) Nommer le produit obtenu et donner une de ses caractéristiques qui permet de l'identifier.

23.3) Indiquer le rôle du chromate de potassium.

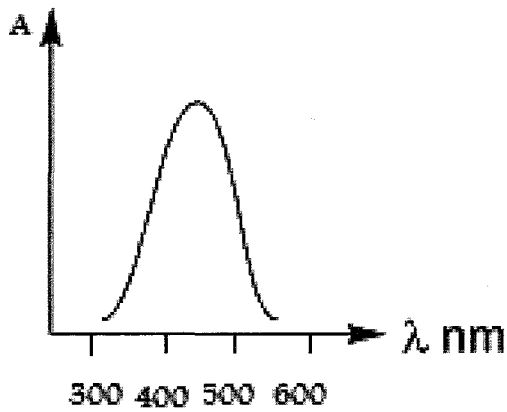
23.4) Expliquer l'apparition de la couleur rouge-orangée.

Il existe une autre méthode de détermination des ions chlorure : la méthode Charpentier-Volhard présentée dans le **document 4**.

23.5) Comparer les méthodes de Mohr et de Charpentier-Volhard sous forme d'un tableau en précisant les critères suivants :
- indicateur de fin de réaction,
- solution titrante,
- dosage direct ou indirect.

Dans le même temps, le laboratoire effectue la recherche de la teneur en nitrites de l'eau de lavage par la méthode de Zambelli par spectrophotométrie. Cette méthode nécessite la réalisation d'une gamme étalon à partir d'une solution mère.

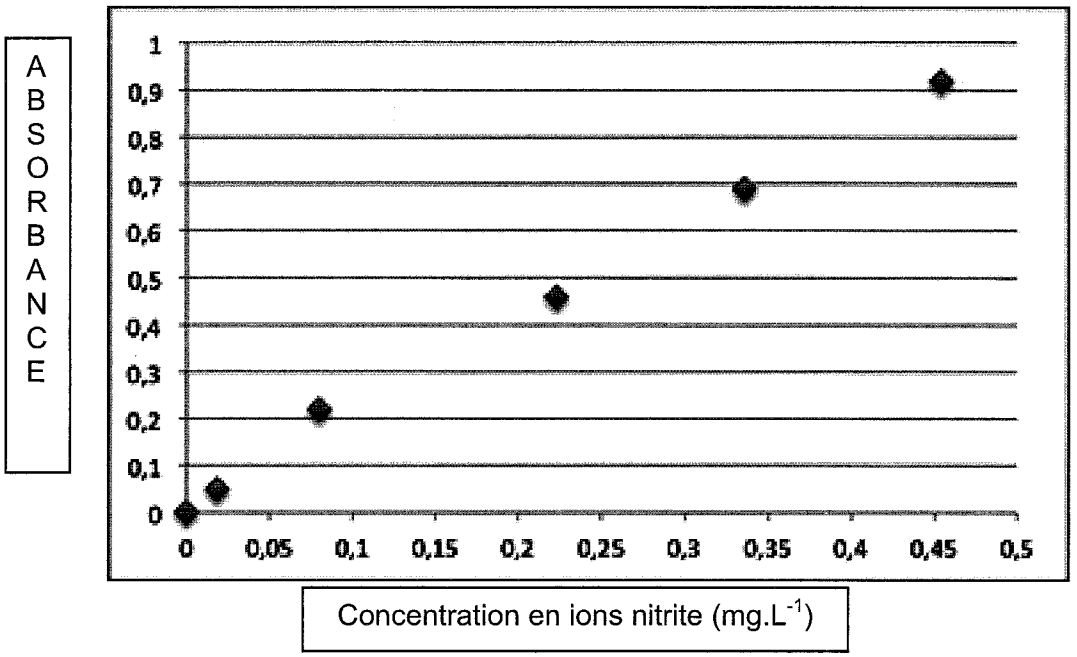
23.6) La courbe ci-dessous représente l'absorbance (A) des ions nitrite en fonction de la longueur d'onde (λ) de la lumière reçue. Choisir la longueur d'onde de travail. Justifier la réponse.



23.7) Donner le rôle de la gamme étalon.

23.8) Expliquer la préparation d'une gamme étalon.

L'analyse d'une gamme étalon par spectrophotométrie permet de tracer le graphique suivant :



L' absorbance mesurée pour l'échantillon d'eau de lavage à analyser est égale à : A = 0,1.

23.9) Déterminer, en justifiant la démarche, la concentration en ions nitrite de l'échantillon.

23.10) Sachant qu'une eau potable ne doit pas contenir plus de 0,1 mg d'ions nitrite par litre, conclure quant à la conformité de cette eau vis-à-vis de ce critère.

3) Analyse biologique

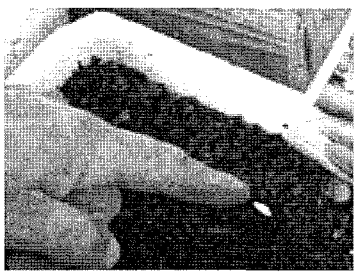
Le vent de panique créé par cette affaire, a conduit de nombreux laboratoires à réfléchir sur la méthode, présentée dans **le document 5**. Elle consiste notamment en la détection des gènes par amplification (les gènes stx codent les vérotoxines des *E.coli* entérohémorragiques EHEC).

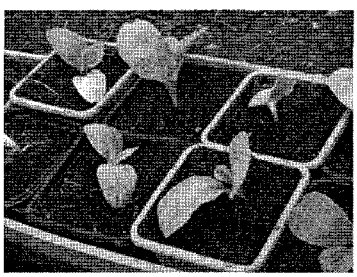
31) Justifier le choix des gènes stx dans la méthode présentée dans le **document 5**.

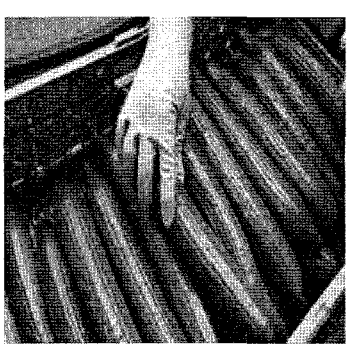
32) Expliquer le principe de la PCR en vous aidant des **annexes A et B** relatives à cette méthode (**compléter** et **joindre** les **annexes A et B** à la copie).

DOCUMENT 1

Etapes de production de concombres







SEMIS

↓

REPIQUAGE ← IRRIGATION FERTILISATION EN COMPOST

↓

CULTURE ← IRRIGATION

↓

RECOLTE

↓

LAVAGE ← EAU JAVELLISEE ($C\ell o^-$ + $C\ell^-$ + $2Na^+$) 1LITRE / 100 LITRES

↓

CONDITIONNEMENT MANUEL EN CAGETTES

↓

LIVRAISON

DOCUMENT 2

FORMULE - TYPE
(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)
Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande ..... 7,0 g
- Extrait autolytique de levure ..... 3,0 g
- **Lactose** .....10,0 g
- **Sels biliaires**.....1,5 g
- Chlorure de sodium ..... 5,0 g
- **Rouge neutre**..... 30,0 mg
- **Cristal violet** ..... 2,0 mg
- Agar agar bactériologique..... 12,0 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

DOCUMENT 3

Méthode de Mohr

- Prélever avec précision 50 mL d'eau à analyser. Les verser dans un erlenmeyer.
- Ajouter 2 à 3 gouttes d'acide nitrique.
- Verser 3 gouttes de chromate de potassium à 10 %.
- Agiter.
- Verser à l'aide d'une burette la solution de nitrate d'argent de concentration connue jusqu'à l'apparition de coloration rouge-orangé persistante.

DOCUMENT 4

Méthode de Charpentier-Volhard

- Prélever avec précision 50 mL d'eau à analyser. Les verser dans un erlenmeyer.
- Ajouter 1mL d'acide nitrique.
- Ajouter 2 mL d'alun ferrique.
- Verser 5 mL de nitrate d'argent de concentration connue mis en excès.
- Agiter.
- Verser à l'aide d'une burette la solution de thiocyanate de potassium (K^+, SCN^-) afin de doser l'excès de nitrate d'argent jusqu'à l'obtention d'une coloration rouge-orangée persistante.

DOCUMENT 5

Proposition pour une méthode séquentielle pour la détection rapide des EHEC

Prise d' essai

↓

Enrichissement dilution au 10º 18 à 24 heures à 37ºC.

↓

Détection des gènes stx par PCR

↓

Détection des antigènes somatiques 0157, 0103, 0111, 0145

DEPISTAGE

↓

Immunoconcentration bactérienne

↓

Isolement sur gélose

↓

Confirmation des colonies caractéristiques

CONFIRMATION

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

MEX

Nom :
(EN MAJUSCULES)
Prénoms :

Date de naissance : 19

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

EPREUVE :

Centre d'épreuve :

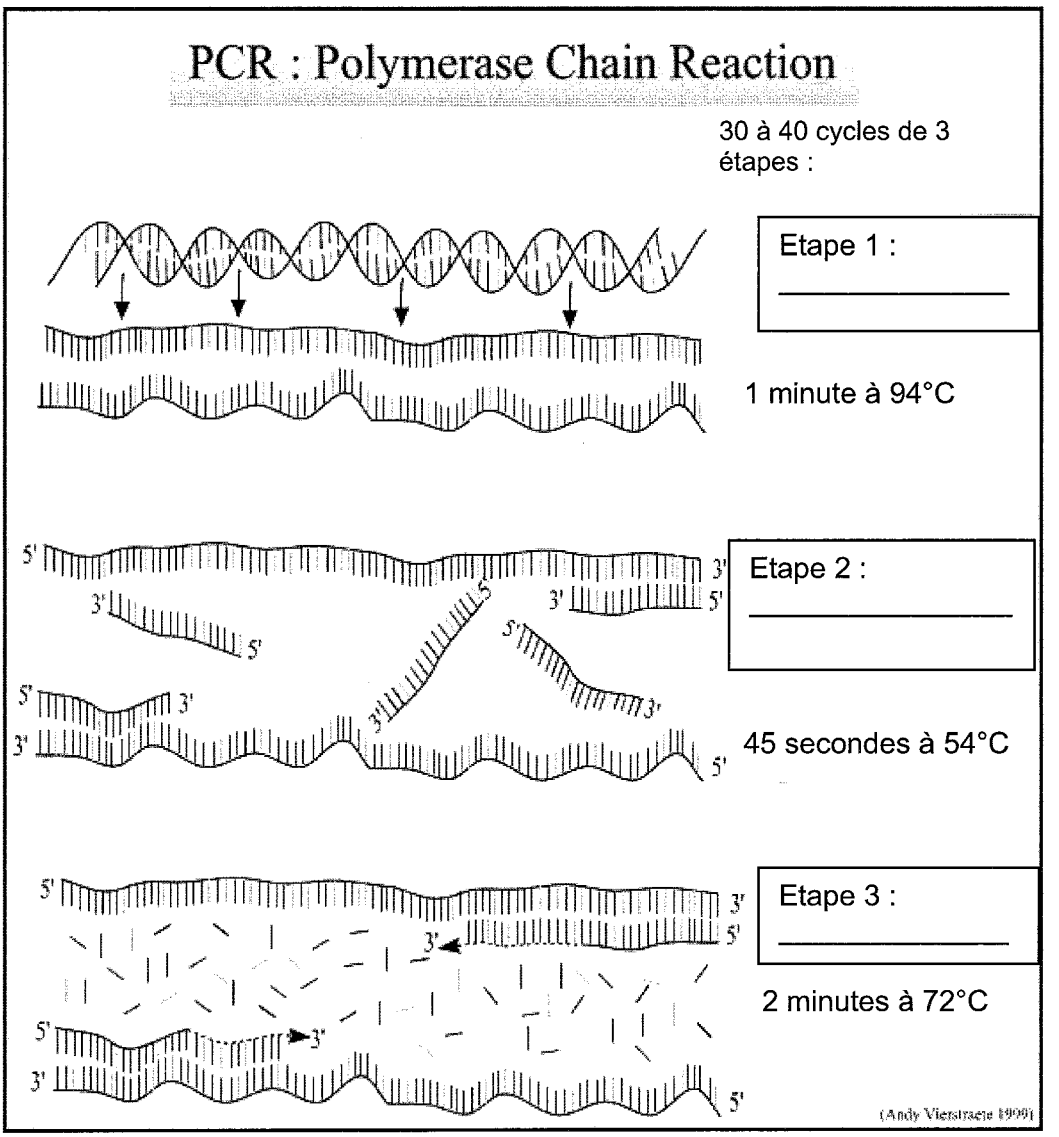
Date :

N° ne rien inscrire

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

N° ne rien inscrire

Compléter ce schéma avec le nom des trois étapes.



MINISTERE DE L'AGRICULTURE

MEX

Nom :
(EN MAJUSCULES)
Prénoms :

Date de naissance : 19

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

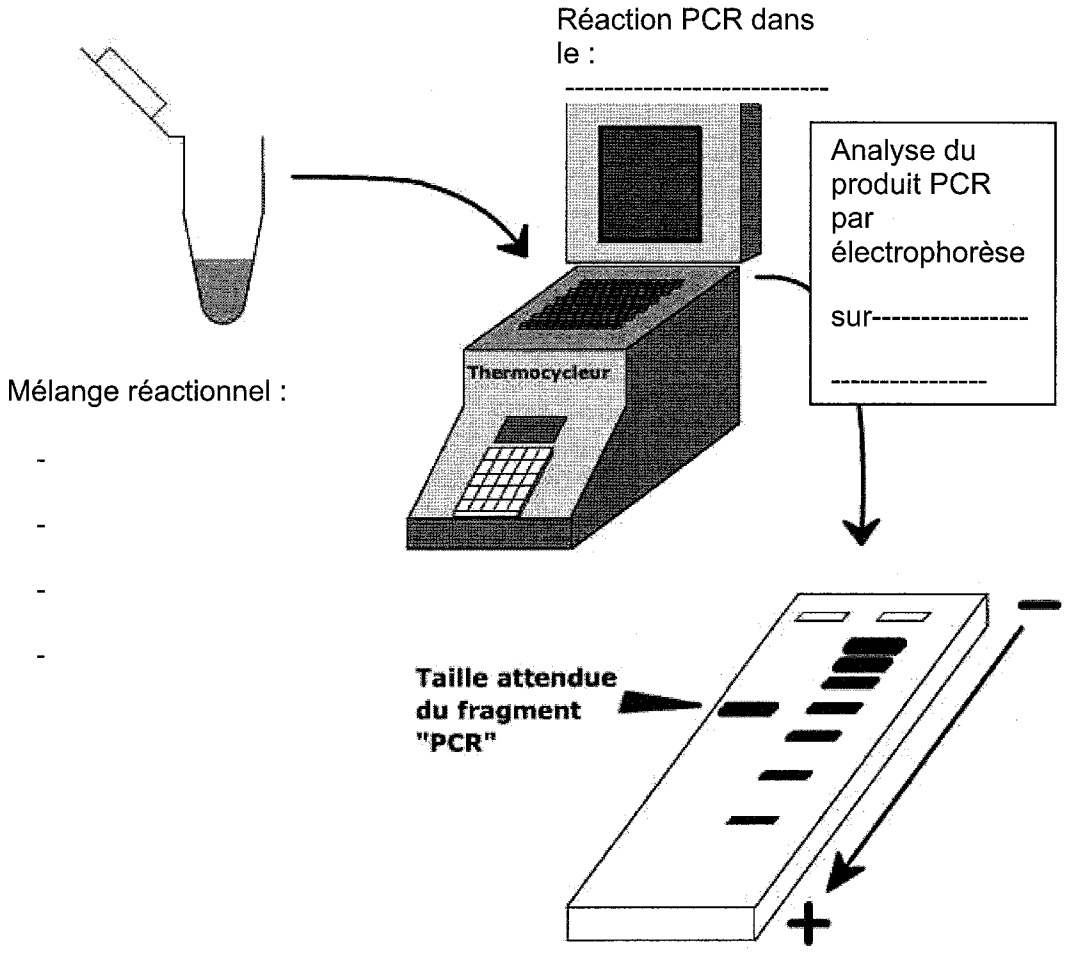
EPREUVE :

Centre d'épreuve :

Date :

N° ne rien inscrire

ANNEXE B ***(à compléter et à rendre avec la copie)***

N° ne rien inscrire

Compléter ce schéma : nom de l'appareil, composition du mélange réactionnel, support pour l'électrophorèse.