

Contrôles qualité dans une industrie fromagère

1^{er} jour (2 heures 30)

L'industrie F fabrique des fromages à pâte molle de type camembert à partir de lait cru. Avant d'être pasteurisé et soumis à l'ensemble des étapes de fabrication, le lait subit une préparation comprenant un traitement thermique (passage à 64-65°C pendant 15 à 20 secondes), un ajustement des taux de matière grasse et de protéines et une étape de maturation.

Pour assurer la qualité du produit fini et donc la satisfaction du consommateur, non seulement l'ensemble de la fabrication doit être bien maîtrisé, mais divers contrôles doivent être réalisés, notamment :

- contrôle des matières premières ;
- contrôle du process de fabrication ;
- contrôle du produit fini.

Le sujet propose de réaliser quelques recherches effectuées au cours de ces contrôles.

1- Contrôle des matières premières : recherche de pénicilline dans le lait cru destiné à la pasteurisation

La pénicilline est l'antibiotique le plus fréquemment utilisé dans le traitement des infections chez les vaches laitières. Sa recherche est donc systématique sur le lait cru destiné à la consommation humaine.

Cette recherche est conduite en deux temps :

- une détection sommaire par technique d'acidification ;
- une méthode de confirmation pour les échantillons positifs ou douteux.

La technique d'acidification s'étant révélée douteuse pour l'échantillon de lait L', il est nécessaire de confirmer selon le protocole ci-dessous.

1-1- Matériel

- Grande boîte de Pétri stérile
- 27 mL de milieu gélosé de Mueller Hinton en surfusion à 55°C
- Souche sensible notée « C »
- Lait à tester noté « L' n°... »
- Lait à tester + pénicillinase noté « L'P n°... »
- Disque de pénicilline
- Lait sans antibactérien noté « Ls »
- Lait avec pénicilline noté « La »
- Disques stériles non imprégnés.

1-2- Mode opératoire

- Ajouter 4 mL de la culture C dans le milieu gélosé et couler en boîte de Pétri.
- Laisser solidifier.
- Déposer à la surface du milieu gélosé :
 - un disque imprégné avec 10 µL de lait « L' » ;
 - un disque imprégné avec 10 µL de lait « L'P ».
- Prévoir les témoins utiles (**les témoins réalisés devront être indiqués sur la copie et leur choix devra être justifié**).
- Incuber à 37°C durant 24 heures.

2- Contrôle au niveau du process de fabrication

2-1- Contrôle des ferments lactiques : recherche et dénombrement des phages

La présence de phages est toujours liée à celle de bactéries. Les phages des bactéries lactiques sont redoutés dans l'industrie fromagère car ils peuvent anéantir une souche de levain sélectionnée et faire perdre une fabrication.

Le dénombrement des phages sera réalisé ici à partir du filtrat d'un échantillon de levain lactique noté « Fn°... ».

2-1-1- Matériel :

- un tube à hémolyse avec 2 mL de filtrat de levain noté « Fn°... »
- un tube contenant 2 mL de chlorure de calcium à 11,4 g/L
- une microplaque stérile
- micropipettes P 100 et P 200 + cônes stériles adaptés
- un tube contenant 2 mL de souche sensible aux phages notée « B »
- 8 tubes de gélose molle M en surfusion à 55°C
- 8 boîtes de Pétri contenant une couche de milieu gélosé M précoulé

2-1-2- Mode opératoire

- Réaliser en microplaque quatre dilutions successives de raison 1/10 du filtrat de levain. Le volume restant dans les cupules après chaque dilution sera de 180 µL (liquide de dilution : chlorure de calcium à 11,4 g/L).

Le tableau de dilution sera reproduit sur la copie.

- Pour chaque dilution, ensemercer 2 boîtes de Pétri en procédant de la façon suivante :
 - dans un tube contenant 5 mL de gélose molle M en surfusion, ajouter :
 - 60 µL de dilution du filtrat de levain
 - 60 µL de culture de la souche sensible au phage
 - homogénéiser soigneusement
 - verser le contenu du tube dans une boîte de Pétri contenant une couche de milieu M précoulé.
- Incuber les boîtes à 37°C durant 24 heures.

2-2- Contrôle de personnel

Monsieur X, doit reprendre ses fonctions en tant qu'opérateur de production après une année d'interruption. Conformément à l'arrêté du 10 mars 1977, relatif à l'état de santé et l'hygiène du personnel appelé à manipuler les denrées animales ou d'origine animale (voir **Annexe 1**), divers examens microbiologiques lui sont prescrits, dont un prélèvement de gorge. Une souche suspecte a été isolée sur milieu sélectif B. Elle est distribuée sur gélose nutritive notée « GTS n° .. ».

- Effectuer un examen macroscopique des colonies présentes sur le milieu.
- Réaliser l'étude microscopique de la souche. **Montrer les résultats obtenus à un examinateur.**
- Effectuer le(s) test(s) d'orientation nécessaire(s). **Montrer la réalisation à un examinateur.**
- Rédiger le compte rendu sur l'**Annexe 2** et le remettre **1 heure 45** après le début de l'épreuve.
- Ensemercer la galerie fournie par le centre (la galerie ne sera délivrée que si une orientation a été proposée).

3- Contrôle du produit fini

Conformément à l'arrêté du 30 mars 1994, il est utile pour l'entreprise de s'assurer que les fromages fabriqués sont satisfaisants en ce qui concerne la concentration en *Escherichia coli*. Le dénombrement sera réalisé selon la technique en gouttes sur une gélose TBX : milieu sélectif et chromogène permettant de différencier *Escherichia coli* des coliformes. La température d'incubation choisie permet de renforcer la sélection des coliformes thermotolérants.

La manipulation sera réalisée à partir d'une suspension-mère de fromage obtenue en broyant 10 g de fromage dans 90 mL de diluant. On dénumbrera les *Escherichia coli* dans chaque dilution 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} .

Les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , et 10^{-3} sont testées en double essai et les dépôts de 10 μ L sont réalisés selon le schéma fourni en **Annexe 3**. Chaque pipetage de 10 μ L est pratiqué en pipetage inverse (méthode rappelée en **Annexe 3**).

3-1- Matériel

- Suspension mère de fromage notée « S n°... »
- 1 gélose TBX
- 1 P 20 + cônes stériles
- tubes de 9 mL d'eau physiologique
- pipettes de 1 mL

Sur le compte-rendu, vous préciserez le matériel utilisé pour la réalisation des dilutions (nombre de tubes et de pipettes).

3-2- Mode opératoire

- Réaliser les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , et 10^{-3} . **Montrer la réalisation d'une dilution à un examinateur.**
- Réaliser les dépôts. **Montrer la réalisation d'un dépôt à un examinateur.**
- Laisser sécher puis incuber la boîte à la température que vous indiquerez sur votre copie.

ANNEXE 1

Arrêté du 10 mars 1977 relatif à l'état de santé et l'hygiène du personnel appelé à manipuler les denrées animales ou d'origine animale (J.O. du 31 mars 1977)

Le ministre de l'agriculture, le ministre de la santé et le secrétaire d'Etat auprès du ministre de l'équipement (Transports),

Vu le code de la santé publique, et notamment son article L.11 ;

Vu le décret n°67-296 du 31 mars 1967 portant règlement d'administration publique pour l'application des articles 258, 259 et 262 du code rural, et relatif à l'organisation et au fonctionnement de l'inspection sanitaire et qualitative des animaux vivants et des denrées animales ou d'origine animale, et notamment l'article 6 de ce décret ;

Vu le décret n°71-636 du 21 juillet 1971 pris pour l'application des articles 258, 259 et 262 du code rural, et relatif à l'inspection sanitaire et qualitative des animaux vivants et des denrées animales ou d'origine animale, et notamment les articles 21, 25 et 26 de ce décret,

Arrêtent :

Article 1er.- Sont susceptibles de contaminer les denrées animales ou d'origine animale mentionnées à l'article 1er du décret du 21 juillet 1971 susvisé :

1. Toute personne atteinte de l'une des maladies transmissibles figurant sur la liste établie en application de l'article 11 du code de la santé publique.

2. Les sujets reconnus porteurs :

- de salmonelles ;
- de shigelles ;
- d'Escherichia coli ;
- de staphylocoques présumés pathogènes ou de streptocoques hémolytiques A.

3. Les sujets reconnus porteurs de parasites :

- a. Formes végétatives ou kystiques d'amibes ;
- b. Ténias et helminthiases diverses.

Article 2.- Tout sujet appelé à la manipulation des denrées animales ou d'origine animale mentionnées à l'article 1er du décret du 21 juillet 1971 doit subir, lors de son admission, les examens de dépistage suivants :

- Une coproculture comportant la recherche des salmonelles, des shigelles et un examen parasitologique des selles, notamment pour la recherche des formes végétatives et kystiques d'amibes dysentériques ;
- Une recherche de staphylocoques présumés pathogènes dans le rhinopharynx et les fosses nasales ;
- Une recherche de streptocoques hémolytiques A dans le pharynx.

Article 3. - Les exploitants des établissements mentionnés à l'article 7 du décret n°71-636 du 21 juillet 1971 sont tenus de faire assurer dans les conditions ci-après une surveillance médicale de tout agent qui, en raison de son emploi, est appelé à manipuler les denrées animales ou d'origine animale mentionnées à l'article 1er du décret susvisé du 21 juillet 1971 :

- a. Mesures à l'entrée dans la profession ou au retour dans la profession après une interruption de travail d'une durée supérieure à six mois
Le postulant à l'emploi est soumis aux examens de dépistage visés à l'article 2.
- b. Mesures périodiques
L'employé fait l'objet, au moins une fois par an, d'un examen clinique comportant un interrogatoire, en vue du dépistage éventuel de l'une des affections visées à l'article 1er.

- c. Mesures complémentaires éventuelles
L'employé est soumis à l'un ou plusieurs des examens de dépistage visés à l'article 2 dans les cas suivants :
- Lorsque l'examen médical périodique permet de suspecter l'existence de l'une des affections visées à l'article 1er ;
 - Lorsque l'analyse des denrées prévue par le décret du 31 mars 1967 laisse suspecter une contamination de ces denrées par le personnel de l'entreprise ;
 - Lors de la reprise du travail après congé de maladie pour une affection du tube digestif ou des voies respiratoires.

Article 4.- Tout exploitant d'établissement procédant lui-même à la manipulation des denrées animales ou d'origine animale mentionnées à l'article 1er du décret du 21 juillet 1971 doit se soumettre, à ses propres frais, à des examens de dépistage dans les conditions prévues à l'article 3 (b et c).

Article 5.- Toute personne reconnue atteinte d'une maladie transmissible ou porteuse de germes ou de parasites à la suite des examens ou interrogatoires visés à l'article 3 ne peut être affectée à l'emploi considéré ou maintenue dans un tel emploi tant que le résultat des examens reste positif.

Article 6.- A l'issue de chaque examen de dépistage, le médecin en consigne les résultats sur un registre établi spécialement à cet effet, selon le modèle annexé au présent arrêté. Les mentions figurant sur le registre sont reproduites sur une carte qui doit être remise à l'intéressé lorsque celui-ci quitte l'entreprise. Elle est présentée au nouvel employeur lors de l'embauchage.

Article 7.- Le présent arrêté sera publié au Journal officiel de la République française.

Fait à Paris, le 10 mars 1977.

Le ministre de l'agriculture,

CHRISTIAN BONNET

Le ministre de la santé,

Pour le ministre et par délégation :

Le directeur général de la santé,

PIERRE DENOIX

Le secrétaire d'état auprès du ministre de l'équipement (Transports),

MARCEL CAVAILLE

ANNEXE 2
A remettre avant :

Travail sur la souche isolée du prélèvement de gorge

N° de candidat :

Etude macroscopique :

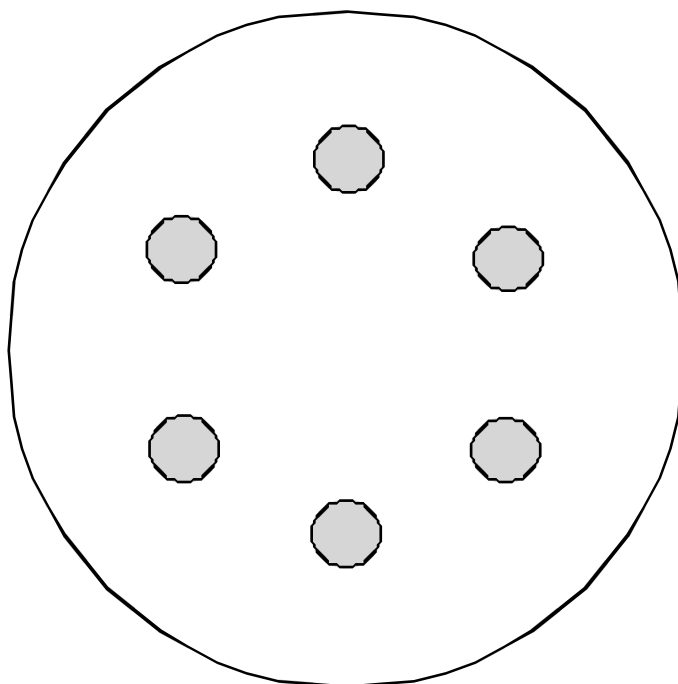
Observation(s) microscopique(s) :

Test(s) d'orientation :

Orientation justifiée :

ANNEXE 3

Gabarit pour le dépôt des gouttes



Protocole de pipetage en mode inverse :

- enfoncer le piston de la pipette jusqu'à la deuxième butée ;
- aspirer ;
- distribuer le volume désiré en enfonçant le piston jusqu'à la première butée ; le volume excédentaire reste dans la pipette.

Contrôles qualité dans une industrie fromagère

2^{ème} jour (1 heure 30)

1- Contrôle des matières premières : recherche de pénicilline dans le lait cru destiné à la pasteurisation

Le critère de qualité du lait retenu par l'entreprise est :

- absence de substances antibactériennes

Décrire les résultats obtenus, les interpréter et conclure.

2- Contrôle au niveau du process de fabrication

2-1- Contrôle des ferments lactiques : recherche et dénombrement des phages

Dénombrer les plages de lyse sur les boîtes où elles sont comptables (150 au maximum). En déduire le nombre de bactériophages par mL de levain lactique.

Conclure quant à la qualité du levain en vue de son utilisation dans cette industrie.

Rappel : sur chaque boîte ont été incorporés 60 µL de la dilution de filtrat de levain lactique.

2-2- Contrôle du personnel

Faire la lecture de la galerieensemencée et identifier la souche à l'aide du logiciel informatique fourni par le centre.

Conclure en utilisant les données de l'**Annexe 1**.

3- Contrôle du produit fini

Après incubation du milieu TBX, les colonies d'*Escherichia coli* sont bleu-vert.

Les souches d'*E.coli* β-Glucuronidase-négative (3-4%) forment des colonies incolores.

Procéder au comptage des colonies caractéristiques au niveau de chaque dépôt. La technique permet de compter jusqu'à 70 colonies par goutte.

En déduire le nombre d'*Escherichia coli* par gramme de fromage. Conclure à l'aide des données ci-dessous.

Données :

Quatre autres unités constituent l'échantillon, en plus de celle que vous venez d'analyser.

Le nombre maximal de résultats pouvant présenter des valeurs comprises entre m et M pour les 5 unités d'échantillons réalisées est de 2.

Valeurs limites m = 100 UFC/g et M = 1000 UFC/g