



Ce document a été numérisé par le CRDP de Bordeaux pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.

Campagne 2010

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOTECHNOLOGIES**

*ÉPREUVE E5 :
Travaux pratiques de biotechnologies*

Durée de l'épreuve : 8 heures
Coefficient : 4

SOUS-ÉPREUVE U.53
*TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE ET
DE GÉNIE FERMENTAIRE*
Durée de la sous-épreuve : 2 H 00
Coefficient : 1

PREMIER JOUR

Durée : 1 heure 30 minutes

Le sujet comporte 4 pages numérotées de 1/4 à 4/4

L'utilisation de la calculatrice est autorisée.

Identification d'un lot contaminé. Vérification de l'étalonnage de la souche productrice.

Lors de la production d'une protéine d'intérêt par une souche d'*E.coli*, un industriel a constaté une diminution de rendement de production dans un des fermenteurs. Suite à cet incident, un technicien est chargé de faire un échantillonnage des différents fermenteurs.

Il est dans l'obligation de vérifier que l'échantillon noté « F » n'est pas contaminé. Cette recherche sera faite par un examen microscopique et confirmé par un isolement.

Par ailleurs, sur ce même échantillon, il vérifie la concordance entre l'absorbance et la concentration cellulaire de la souche productrice.

La protéine d'intérêt a des effets inhibiteurs sur la croissance bactérienne. On se propose de déterminer sa CMI en milieu liquide.

1 Coloration de Gram et contrôle de pureté

1.1 Matériel

En plus du matériel usuel de laboratoire, sont fournis :

- Flacon de prélèvement de 10 mL « F »
- 1 tube à essais de 5 mL d'eau physiologique stérile
- Matériel pour coloration de Gram
- 1 gélose marquée « GTS »

1.2 Mode opératoire

- Effectuer un examen microscopique sur le prélèvement « P »
⇒ *Présenter un champ microscopique à l'examineur*
- Réaliser un isolement sur gélose GTS fournie
- **Incuber 24h à 37°C**

1.3 Compte rendu

Rédiger l'ensemble des résultats de façon précise et concise sur le compte rendu.

2 Vérification de l'étalonnage de la souche

2.1 Matériel

En plus du matériel usuel de laboratoire de microbiologie, sont fournis :

- Flacon de prélèvement « F »
- 1 flacon de 20 mL de bouillon ordinaire stérile marqué « BO »
- micro-cuves de spectrophotomètre
- 10 tubes à hémolyse stériles
- 1 flacon de 30 mL d'eau physiologique stérile marqué « EPH »
- 6 gélouses dénombrement coulées marquées « PCA »
- 1 tube de billes de verre stériles ou râteau
- 1 pot en verre pour récupération des billes

Matériel commun : spectrophotomètre + notice

2.2 Mode opératoire

- effectuer un prélèvement et une mesure d'absorbance à 650 nm *en présence d'un examinateur*
- calculer la concentration cellulaire dans le prélèvement « F »
- en déduire les dilutions à ensemercer pour une numération en surface de milieu gélosé
- réaliser un dénombrement sur gélose dénombrement en double essai sur trois dilutions successives
- incuber 24h à 37°C

Données :

Concordance : à une absorbance de 0,1 correspond $1 \cdot 10^7$ bactéries par mL à 650 nm.

Limite de linéarité de la méthode : voisine de 0,6.

2.3 Compte rendu

Présenter le calcul des dilutions.

3 Etude de l'activité inhibitrice de la protéine d'intérêt

3.1 Matériel

- 1 tube à essais contenant 5 mL de souche sensible en bouillon ordinaire marquée « test »
- 1 tube de 3 mL de protéine d'intérêt noté « P » à 2560 mg.L^{-1}
- 1 flacon de 30 mL d'eau physiologique stérile marqué « EPH »
- 1 flacon de 20 mL de bouillon Muller Hinton noté « MH » maintenu à 37°C
- 1 tube contenant 2 mL de solution de glucose à 20%
- 1 tube contenant 1 mL de rouge de phénol
- 24 tubes à hémolyse stériles

3.2 Mode opératoire

3.2.1 Préparation de la gamme de protéine d'intérêt

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Protéine d'intérêt à 2560 mg.L^{-1} (mL)	1	1									
Eau distillée (mL)		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Volume redistribué (mL)			1	1	1	1	1	1	1	1	1
Concentration en mg.L^{-1}											

3.2.2 Préparation de l'inoculum

Compléter le flacon de « MH » préchauffé par :

- 1 mL de la solution de glucose à 20% (concentration finale à 1%)
- 6 gouttes de rouge de phénol
- 2,2 mL de culture de la souche sensible

3.2.3 Détermination de la CMI

- distribuer 0,2 mL de la gamme de protéine d'intérêt dans 11 tubes à hémolyse
- ajouter 1,8 mL du contenu du flacon de « MH » préparé précédemment
- prévoir un tube témoin T

Tubes	T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Protéine d'intérêt dilué (mL)		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Contenu du flacon de « MH » préparer (mL)		1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8

- incuber 18h à 37°C

3.3 Compte rendu

Préciser la composition du tube témoin.