



SERVICES CULTURE ÉDITIONS
RESSOURCES POUR
L'ÉDUCATION NATIONALE

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

session 2011

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire

SESSION 2011

DURÉE DE L'ÉPREUVE : 2h
COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français
- l'utilisation de la calculatrice n'est pas autorisée

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 7 pages numérotées de 1/7 à 7/7.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes	Code sujet	Page : 1/7
Sous épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	

Des virus pour combattre les infections : la phagothérapie

La phagothérapie est l'utilisation de bactériophages lytiques afin de traiter certaines maladies infectieuses d'origine bactérienne. Bien qu'elle ait été progressivement abandonnée par les pays occidentaux séduits par les avantages de l'antibiothérapie, la phagothérapie traditionnelle est toujours employée et développée dans les pays de l'ancienne Union Soviétique.

On constate un renouveau d'intérêt de l'occident pour les phages depuis 1994, lorsqu'il a été démontré (dans un modèle animal) que l'utilisation de phages pouvait améliorer le succès des greffes de peau en réduisant l'infection sous-jacente par *Pseudomonas aeruginosa*.

1. Les bactériophages (5 points)

1.1. Donner les caractéristiques qui permettent de définir un virus.

Le **document 1** représente la structure d'un bactériophage T4.

1.2. Ce bactériophage présente une symétrie mixte : justifier cette affirmation.

1.3. Préciser les rôles respectifs des éléments 3 et 4.

Les bactériophages peuvent être lytiques ou tempérés.

1.4. A l'aide de schémas annotés, présenter les étapes caractéristiques d'un cycle lysogène.

1.5. Préciser pourquoi les bactériophages tempérés ne sont pas utilisés en phagothérapie.

Les bactériophages tempérés peuvent permettre dans certains cas le transfert horizontal de l'information génétique.

1.6. Nommer et définir ce phénomène.

1.7. Citer et définir brièvement les autres modes de transferts horizontaux.

2. Études expérimentales (10 points)

L'action thérapeutique potentielle de bactériophages, purifiés et caractérisés, a été évaluée sur une souche de *Klebsiella pneumoniae*. Des plaies de souris, résultant de brûlures, ont été infectées par cette souche.

L'obtention et la préparation des bactériophages ayant pour cible cette bactérie sont décrites dans le **document 2**.

2.1. À partir du **document 2**, préciser les procédés d'élimination des bactéries lors de la préparation des suspensions phagiques.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes Sous épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	Code sujet BOE4MGF	Page : 2/7

2.2. Déterminer le titre de la suspension phagique Kpn5.

L'effet du bactériophage Kpn5 est mis en évidence en réalisant un suivi de croissance de la souche *Klebsiella pneumoniae* en présence ou non de ce bactériophage.

Le **document 3** présente les résultats de croissance ainsi que la composition des milieux utilisés.

2.3. Calculer la vitesse spécifique exponentielle de croissance pour chacune des conditions, en indiquant la démarche suivie. Utiliser le tableau pour l'application numérique.

2.4. Comparer les valeurs obtenues. Montrer que l'écart relatif est significatif.

2.5. Proposer une hypothèse expliquant la différence entre ces deux valeurs.

Pour obtenir ces courbes de croissance, la souche bactérienne est cultivée dans un bioréacteur de 2 litres, à agitation mécanique, pourvu de sondes autoclavables, et contenant le milieu A. La souche cultive également sur le milieu B mais elle ne cultive pas sur le milieu B sans glucose.

2.6. Indiquer le rôle des constituants dont les noms sont soulignés.

2.7. Qualifier les milieux A et B.

2.8. En déduire le type trophique de la souche vis-à-vis de chacune des sources utilisées. Justifier les réponses.

2.9. Réaliser un schéma correctement légendé mettant en évidence les éléments essentiels du bioréacteur préparé pour l'autoclavage.

L'action des phages est ensuite testée sur des plaies de souris infectées par la bactérie *Klebsiella pneumoniae*. Le **document 4** présente ces essais de phagothérapie et les résultats correspondants.

2.10. Donner la signification des valeurs présentées dans le document.

2.11. Indiquer l'effet de l'infection des souris par *Klebsiella pneumoniae*, pour le groupe contrôle.

2.12. Interpréter globalement les résultats observés pour les groupes traités.

2.13. Identifier le phage le plus intéressant pour cette phagothérapie. Justifier la réponse.

3. Phagothérapie et antibiothérapie (4 points)

Un phénomène de « synergie phages-antibiotiques » a été observé chez plusieurs espèces de phages virulents : l'addition de faibles doses de certains antibiotiques augmente de façon significative la production de phages.

Le **document 5** présente les résultats d'antibiogrammes (action des antibiotiques sur la croissance bactérienne après diffusion en milieu gélosé) en absence ou en présence de phages.

3.1. Donner une définition d'un antibiotique.

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes	Code sujet	Page : 3/7
Sous épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	

- 3.2. Indiquer deux cibles cellulaires possibles et les conséquences de l'effet des antibiotiques chez les bactéries.
- 3.3. Préciser l'élément structural commun entre les antibiotiques 2 et 6.
- 3.4. A l'aide du **document 5**, montrer que l'action du phage sur les bactéries est modifiée en présence de certains antibiotiques. Proposer une hypothèse reliant la classe d'antibiotique active à l'effet observé.

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (1 point)

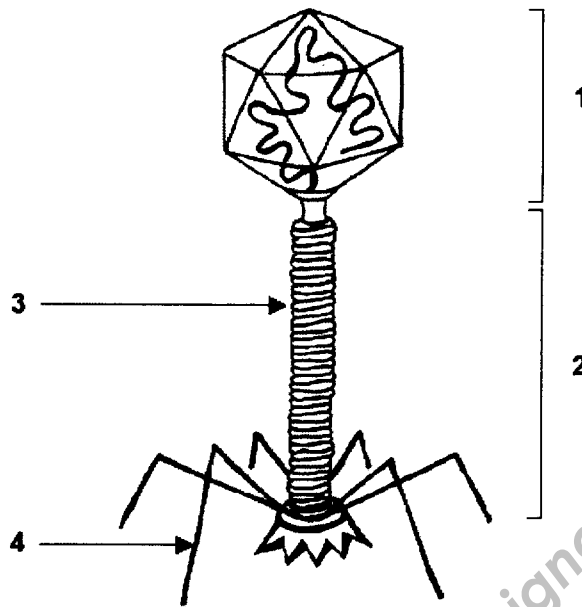
Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)

Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement Professionnel
réseau SCEREN

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes Sous épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	Code sujet BOE4MGF	Page : 4/7

Document 1 : Schéma d'un bactériophage



Document 2 : Phage isolation and preparation.

Five *Klebsiella* bacteriophages were isolated from sewage samples from different sources in and around Chandigarh area. Phage titer was determined by the soft agar overlay method. The phages were named Kpn5, Kpn12, Kpn13, Kpn17, and Kpn22 and characterized on the basis of morphological, genomic, and structural analysis. High titer was prepared by adding phages to host culture at an MOI (multiplicity of infection) of 0.1 and incubating at 37°C, until complete clearance was achieved. The clear phage suspensions were centrifuged (10,000 rpm for 10 min) and filtered through a 0.45- μm pore size Millipore filter to remove any bacterial contaminants. High titer of these phages was estimated and expressed as plaque forming unit (PFU)/ml. Phage suspensions were stored at 4°C for routine use.

Titration des suspensions phagiques.

Mode opératoire :

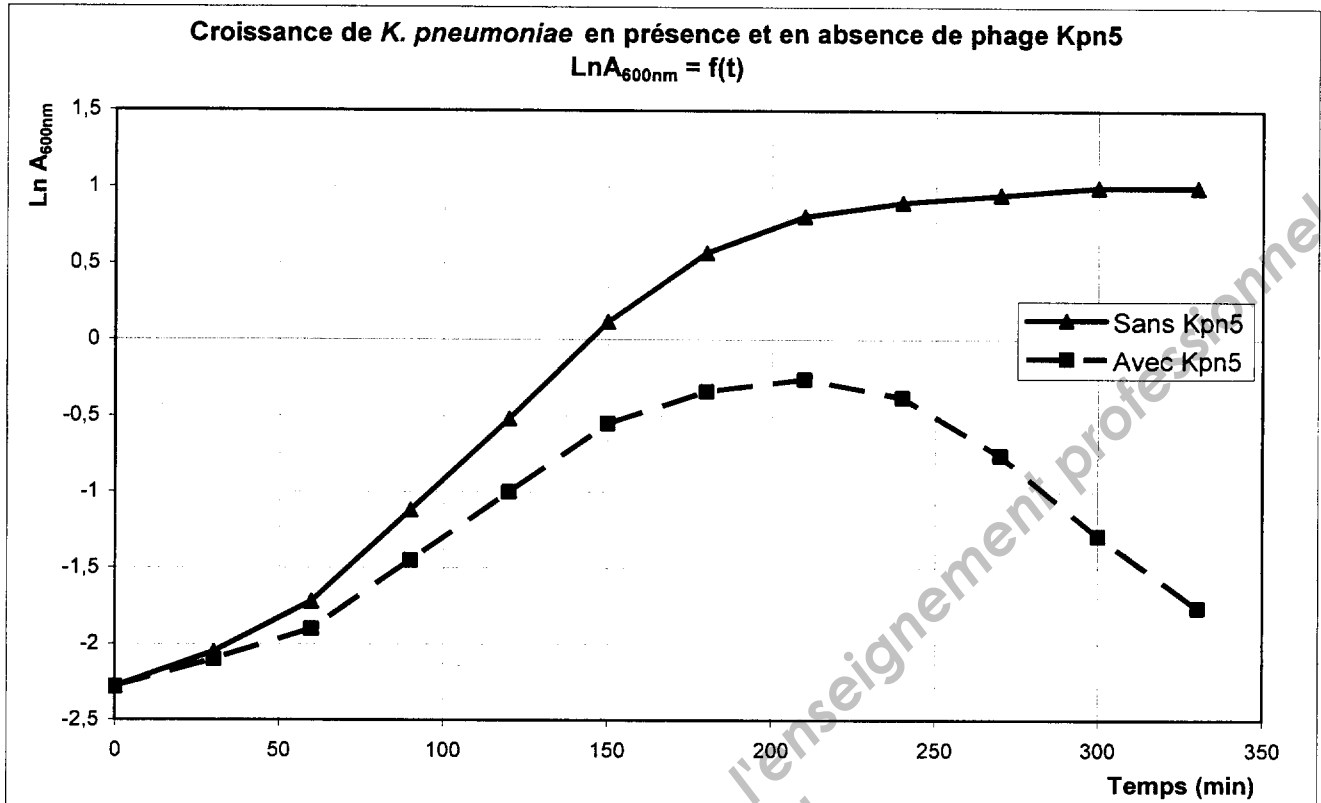
- Réaliser des dilutions décimales de la suspension phagique.
- Introduire dans une série de tubes à hémolyse :
 - 100 μL de la suspension phagique diluée
 - 200 μL de suspension de *Klebsiella pneumoniae* à $5 \cdot 10^8$ bactéries. mL^{-1}
 - 3 mL de gélose LB6 en surfusion
- Couler très rapidement dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose LB15 bien sèche.
- Incuber à 37°C pendant 48 h.

Résultat obtenu après incubation pour la dilution 10^{-7} de la suspension phagique Kpn5.



BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes	Code sujet	Page : 5/7
Sous épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	

Document 3



	Sans Kpn5	Avec Kpn5
Temps (min)	Ln A _{600nm}	Ln A _{600nm}
0	-2,28	-2,28
30	-2,05	-2,1
60	-1,72	-1,9
90	-1,12	-1,45
120	-0,52	-1,00
150	0,12	-0,55
180	0,57	-0,34
210	0,81	-0,26
240	0,9	-0,38
270	0,95	-0,76
300	1	-1,29
330	1	-1,76

Milieu A : composition pour 1 L de milieu

Extrait de viande	1 g
Extrait de levure	2 g
Peptones	5 g
NaCl	5 g

Milieu B : composition pour 1 L de milieu.

$\text{K}_2\text{HPO}_4 / \text{KH}_2\text{PO}_4$	1 g
KNO_3	0,5 g
$\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	0,2 g
CaCl_2	0,1 g
NaCl	0,1 g
FeCl_3	0,01 g
Glucose	1 g

Tableau de valeurs des suivis de croissance

Milieus utilisés pour la culture de *Klebsiella pneumoniae* en bioréacteur.

Document 4: Treatment with phages :

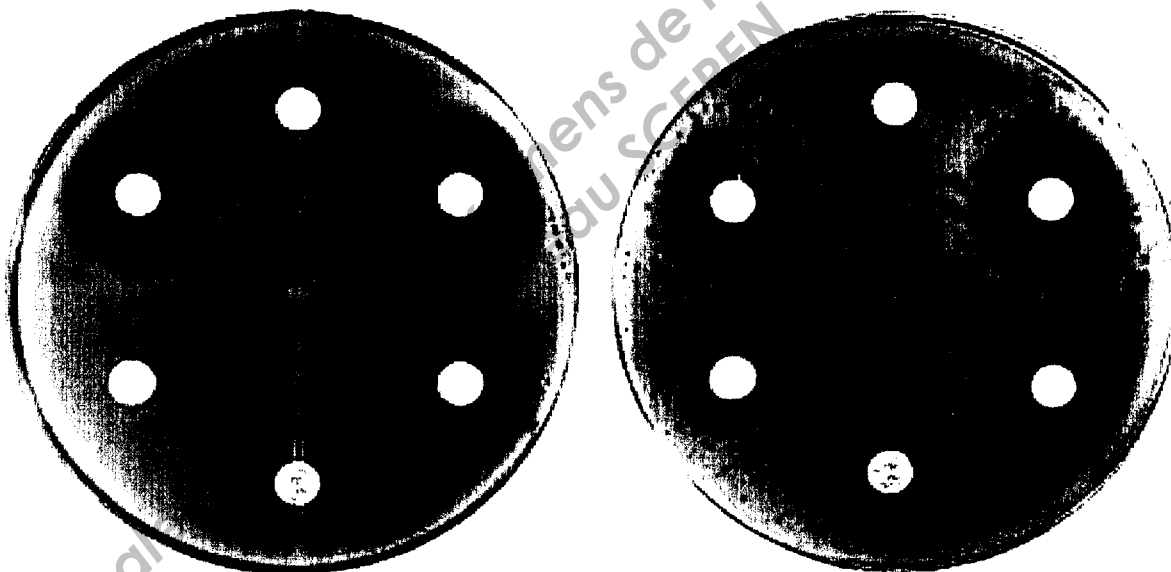
The survival rate of burned and bacterial challenged mice after treatment with different phages, individually as well as in cocktail, was evaluated. In the control group, all burned mice were challenged with bacterial inoculum and received no phage. The health of these animals was monitored for 10 days and survival rates for control and phage-treated groups were recorded.

Results

Groups	Survival rate (percentage ^a)		
	24 h	48 h	72 h
Control	55.8 ± 9.3	19.4 ± 4.8	05.5 ± 9.6
Kpn5-treated group	100.0 ± 0	97.2 ± 4.8	97.2 ± 4.8
Kpn12-treated group	97.2 ± 4.8	94.4 ± 4.8	88.8 ± 4.8
Kpn13-treated group	94.4 ± 4.8	88.8 ± 9.6	83.2 ± 8.1
Kpn17-treated group	88.8 ± 4.8	88.8 ± 4.8	80.5 ± 9.6
Kpn22-treated group	91.6 ± 8.3	86.1 ± 9.6	86.1 ± 9.6
Cocktail	97.2 ± 4.8	94.4 ± 4.8	94.4 ± 4.8

(^a)The average percent survival of animals in three experiments was determined as mean±standard deviation.

Document 5

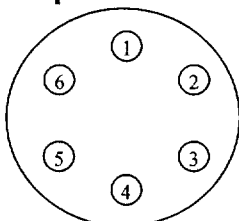


Hôte *E. coli* MFP
Phage -

Hôte *E. coli* MFP
Phage ϕ MFP

À gauche, un antibiogramme montrant la sensibilité de la souche uropathogène *E. coli* MFP à différents antibiotiques. À droite, le même antibiogramme avec l'addition de phages virulents Φ MFP dans le tapis bactérien.

Matrice des dépôts:



- 1 : amoxicilline
- 2 : β -lactames aztreonam
- 3 : gentamicine
- 4 : tétracycline
- 5 : triméthoprime/sulfaméthoxazole
- 6 : céphalosporine C

BTS BIOTECHNOLOGIES		Session 2011
Biologie des procaryotes et des eucaryotes	Code sujet	Page : 7/7
Sous épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire	BOE4MGF	