



**LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Bordeaux
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

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

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES**

**ÉPREUVE E5 – UNITÉ U52
TECHNIQUES DE MICROBIOLOGIE**

2^{ème} JOUR

SESSION 2011

Durée : 1 heure 30

Coefficient : 4

Matériels autorisés :

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique à condition que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Cirulaire n°99-186, 16/11/1999)

Au cours de l'épreuve, le jury appréciera les qualités d'organisation, le respect des règles d'hygiène et de sécurité en laboratoire.

**Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 6 pages, numérotées de 1/6 à 6/6.**

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES	Session 2011
Nom de l'épreuve : Techniques de microbiologie - 2 ^{ème} jour	Code : BAE5TM/2 Page : 1/6

SUIVI D'UNE PRODUCTION DE VITAMINE B12 EN BIORÉACTEUR PAR DOSAGE MICROBIOLOGIQUE

Rappel du contexte professionnel

Une bio-industrie produit de la vitamine B12 par fermentation utilisant une souche de mycète productrice. Dans le cadre d'une recherche d'amélioration des rendements de production, l'entreprise teste deux nouveaux protocoles expérimentaux en bioréacteur pilote : un protocole en batch et un second en fed-batch. On dispose dans les deux cas du moût de fermentation récupéré en fin de procédé après 60 heures de fermentation.

On détermine dans ces moûts la concentration finale de vitamine B12 par dosage microbiologique. La souche utilisée pour le dosage est une entérobactérie : *E.coli* « B12 », souche auxotrophe vis-à-vis de ce facteur de croissance.

Lors des précédents essais en bioréacteur pilote, les moûts de fermentation récupérés étaient fréquemment contaminés par une souche bactérienne que l'entreprise a pu isoler.

On se propose d'identifier ce contaminant et de déterminer sa CMI vis-à-vis d'un antibiotique à large spectre régulièrement utilisé dans l'entreprise pour préserver les cultures vis-à-vis de cette souche.







Objectifs

- Lecture des boîtes de dosage de la vitamine B12 et exploitation informatique des résultats.
- Identification du genre et de l'espèce de la souche contaminante.
- Lecture des résultats de la CMI et exploitation.






Mise en oeuvre

Activités professionnelles	Ressources- Documents	Pages	Documents à compléter et à joindre à la copie
1 Dosage de la vitamine B12 dans des moûts de fermentation (35 points)	- Outil informatique + tableur		Feuille de traçabilité (page 5)
2 Identification de la souche bactérienne contaminant les moûts de fermentation (25 points)	- Fiche de lecture de la galerie API STAPH (fournie par le centre) - Outil informatique + logiciel type API - Fiches de sécurité 1 et 2	3 et 4	Rapport d'analyses (page 6)
3 Détermination de la CMI vis-à-vis de la souche « S » (20 points)	--		

FICHE DE SÉCURITÉ 1

REACTIF & PICTOGRAMME	ÉTIQUETAGE	PHRASES DE SECURITE
REACTIFS DE REVELATION (LECTURE DE GALERIES)		
Réactif NIT 1 <i>Autre dénomination : Acide sulfanilique (en solution acétique)</i>		
 Xi  C	Acide sulfanilique (acide 4-aminobenzène-sulfonique) C ₆ H ₇ NO ₃ S	R36/38 – Irritant pour les yeux et la peau. R43 – Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. S24/25 – Éviter le contact avec la peau et les yeux. S37 – Porter des gants appropriés.
	Solvant : acide acétique (acide éthanóique) CH ₃ COOH	R10 – Inflammable. R35 – Provoque de graves brûlures. S23 – Ne pas respirer les gaz/fumées/vapeurs/aérosols. S26 – En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. S45 – En cas d'accident ou de malaise consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).
Réactif NIT 2 <i>Autre dénomination : α-naphtylamine (en solution acétique)</i>		
 Xn  C	α-naphtylamine (1-aminonaphtalène) C ₁₀ H ₉ N	R22 – Nocif par ingestion. S24 – Éviter le contact avec la peau.
	Solvant : acide acétique (acide éthanóique) CH ₃ COOH	R10 – Inflammable. R35 – Provoque de graves brûlures. S23 – Ne pas respirer les gaz/fumées/vapeurs/aérosols. S26 – En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. S45 – En cas d'accident ou de malaise consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).
Réactif VP 1 <i>Autre dénomination : Soude (hydroxyde de sodium)</i>		
 Danger  C	Hydroxyde de sodium NaOH	H 314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H 290 : Peut être corrosif pour les métaux. P 280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P 301 + P 330 + P 331 : EN CAS D'INGESTION : Rincer la bouche. NE PAS faire vomir. P 305 + P 351+ P 338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. P 309 +P 310 : EN CAS d'exposition ou d'un malaise: Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. R35 – Provoque de graves brûlures. S26 – En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. S36/37 – Porter un vêtement de protection et des gants appropriés. S45 – En cas d'accident ou de malaise consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).

FICHE DE SÉCURITÉ 2

REACTIF & PICTOGRAMME	ÉTIQUETAGE	PHRASES DE SECURITE
<p>Réactif VP 2</p>  <p style="text-align: center;">Danger</p>	<p><i>Autre dénomination : α-naphtol</i></p> <p>Napht-1-ol C₁₀H₇OH</p>	<p>H 312 : Nocif par contact cutané. H 302 : Nocif en cas d'ingestion. H 315 : Provoque une irritation cutanée. H 318 : Provoque des lésions oculaires graves. H 335 : Peut irriter les voies respiratoires.</p> <p>P 280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P 260 : ne pas respirer les poussières.</p> <p>P 302+ P 352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon.</p> <p>P 305 + P 351 + P 338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.</p>
 <p style="text-align: center;">Xn</p>		<p>R21/22 – Nocif par contact avec la peau et par ingestion. R36/38 – Irritant pour les voies respiratoires et la peau. R41 – Risque de lésions oculaires graves. S22 – Ne pas respirer les poussières. S26 – En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. S37 – Porter des gants appropriés.</p>
<p>« ZYM A »</p>  <p style="text-align: center;">Xn</p>	<p>Tris-hydroxyméthyl-aminométhane - HCl 37% - laurylsulfate de sodium</p>	<p>R36/38 – Irritant pour les yeux et la peau.</p> <p>S26 – En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.</p>
<p>« ZYM B »</p>  <p style="text-align: center;">T</p>		<p>R10 – Inflammable. R39/23/24/25 – Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. R36/37/38 – irritant pour les yeux et la peau ; irritant pour les voies respiratoires.</p>
 <p style="text-align: center;">Xn</p>	<p>Fast blue BB (matière active) – méthanol - DMSO</p>	<p>R22 – Nocif en cas d'ingestion. R36/37/38 – Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau. S26 – En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste. S36 – Porter un vêtement de protection approprié.</p>

FEUILLE DE TRAÇABILITÉ

(à rendre avec la copie)

NOM DE L'OPÉRATEUR

Date :

Poste n°

1 - Dosage de la vitamine B12 dans des moûts de fermentation

Tableau de relevé des diamètres des zones de croissance :

$C_{vit\ B12}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	Essai batch	Essai fed-batch
Ø croissance boîte 1 (cm)								
Ø croissance boîte 2 (cm)								
Ø moyen (cm)								

Validation de la technique :

Courbe d'étalonnage : $\log C_{vit\ B12} = f(\text{Ø zone de croissance})$

→ graphe à joindre avec la copie (réalisé avec l'outil informatique)

2 - Identification de la souche bactérienne contaminant les moûts de fermentation

Validation des résultats :

Lecture de la VF et conclusion :

Lecture de galerie API par méthode probabiliste (feuille de résultats API à joindre avec la copie).

3 - Détermination de la CMI vis-à-vis de la souche « S »

Tableau de résultats :

Validation des résultats :

Lecture de la CMI :

RAPPORT D'ANALYSES

(à rendre avec la copie)

NOM DE L'OPÉRATEUR

Date :

Poste n°

1 - Dosage de la vitamine B12 dans des moûts de fermentation

- $C_{vit\ B12}$ (prélèvement batch = 60 h) :

- Productivité volumique horaire du procédé batch (en $\mu g_{vit\ B12} \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$) :

- $C_{vit\ B12}$ (prélèvement fed-batch = 60 h) :

- Productivité volumique horaire du procédé fed-batch (en $\mu g_{vit\ B12} \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$) :

- Conclusion

2 - Identification de la souche bactérienne contaminant les moûts de fermentation

- Conclusion :

3 - Détermination de la CMI vis-à-vis de la souche « S »

- Conclusion :