



**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.

CORRIGE

Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.

PRODUCTION INDUSTRIELLE D'INSECTICIDE PAR BACILLUS THURINGIENSIS

CARACTÉRISTIQUES DE BACILLUS THURINGIENSIS

1 - Structure et comportement environnemental de *B. thuringiensis*

1.1 - La paroi des G+ (peptidoglycane plus épais) est plus imperméable à l'éthanol que celle des G- (membrane externe déstabilisée par l'éthanol).

1.2 -

1.2.1 -

1	Exosporium	5	Paroi
2	Tunique externe	6	Membrane cytoplasmique
3	Tunique interne	7	Cœur = cytoplasme
4	Cortex	8	ADN

1.2.2 - Méthode de coloration au vert malachite, puis contre coloration (safranine).

1.2.3 - La thermorésistance est liée en partie :

- structuralement : présence de tuniques et de cortex.
- chimiquement : présence de dipicolinate de calcium.
- état de déshydratation de la spore : la spore bactérienne est plus pauvre que la forme végétative en eau (faible activité de l'eau, donc activités métaboliques réduites) : cette pauvreté en eau joue un rôle essentiel dans la résistance de la spore à la chaleur.

1.2.4 - Conditions de croissance et environnementales défavorables : manque d'éléments nutritifs.

2 - Systématique bactérienne

2.1 - Le séquençage de l'ARN 16S, le calcul du GC% et l'hybridation ADN/ADN permettent de rapprocher des espèces phénotypiquement éloignées mais phylogénétiquement proches, telles que *B. thuringiensis* et *B. cereus*.

2.2 - Principe sérotypage : méthode d'agglutination sur lame mettant en jeu des complexes antigène-anticorps : les anticorps poly ou monoclonaux étant dirigés contre les antigènes flagellaires (protéiques) à la base de la distinction de l'espèce *thuringiensis* en différents sérotypes.

OPTIMISATION D'UN PROCÉDÉ DE FERMENTATION INDUSTRIEL

3 - Évaluation de procédés de culture en milieu liquide

3.1 -

3.1.1 - Contrôle de pureté du milieu de culture.

3.1.2 - L'extrait de levure apporte des facteurs de croissance (vitamines, acides aminés et bases azotées).

3.1.3 - Hydrolysats protéiques : apport carboné en acides aminés (source d'azote et carbone).

3.1.4 - Condition expérimentale : O₂ (20 %).

Type respiratoire : aérobic strict ou facultatif.

3.1.5 - Sources de carbone des milieux, utilisables par la bactérie en cours de fermentation :

Milieu 1	Glucose, extrait levures, caséines	Milieu 4	Peptone, extrait bœuf, extrait levure	} 3 points
Milieu 2	Tryptone, tryptose, extrait levure	Milieu 5	Peptone, extrait bœuf	
Milieu 3	Tryptone, glucose	Milieu 6	Levures, mélasses	

Les milieux semblant les plus riches, compte tenu des quantités impliquées sont :

- le milieu 3 (tryptone 20 g/L)

- le milieu 6 (fodder yeast 40 g/L et mélasses 15 g/L).

} 2 points

3.1.6 - Analyse des graphes : (3 points)

Biomasse : peu de différence entre les 6 milieux mais meilleure production avec milieu 3.

Spore : grande variabilité avec meilleure production avec M3 et M6.

Toxicité : grande variabilité, plus forte toxicité avec M6.

Choix des milieux : (1,5 point)

Les M3 et M6 présentent les meilleurs résultats mais biomasse et sporulation équivalentes, c'est M6 qui présente la plus forte toxicité.

Choix final : (0,5 point)

Donc le choix se porte sur le milieu 6 d'autant que son coût de revient est le plus bas (mélasse : déchet de l'industrie sucrière).

3.2 -

3.2.1 - Schéma fermenteur batch mentionnant :

- cuve
- système d'agitation
- moteur
- système d'aération : apport d'oxygène ou d'air (avec filtre)
- sondes : température, pH, PO_2
- sortie air (avec réfrigérant)
- système de thermorégulation
- arrivée d'acide/base
- arrivée anti-mousse
- canule de prélèvement
- voie d'entrée (pour préculture)

Le jury appréciera la pertinence et le soin du schéma réalisé

3.2.2 - Présence de protéines, agitation et O_2 entraînent la formation de mousse.

Problématique car risque de contamination extérieure due à un débordement du bioréacteur.

3.2.3 - Culture en batch : pas de renouvellement de milieu.

Culture en fed-batch : apport continu ou ponctuel de milieu (sans retrait de milieu).

3.2.4 - Phases de croissances :

- phase exponentielle de croissance (absence latence et accélération)
- phase de ralentissement
- phase stationnaire (courte)
- phase de déclin

La phase de ralentissement s'explique par la chute de la concentration en sucre observée.

La diminution de pH correspond à la production d'acides suite à l'utilisation des molécules glucidiques : l'augmentation consécutive provient de la production de déchets métaboliques, contribuant ainsi à la phase de déclin.

La toxicité augmente suite à la phase stationnaire de croissance.

Il est donc indispensable de retarder l'apparition de la phase de déclin afin de retarder l'arrêt de production de toxicité.

Il est ainsi intéressant d'envisager la culture en fed-batch.

3.2.5 -

3.2.5.1 - Apport en mélasse : 2,5 mL/L/h → avec 20 g/L = 0,05 g/L/h.

3.2.5.2 - La culture en fed-batch avec alimentation continue en mélasse donc en source de carbone et d'énergie permet de :

- maintenir le pH relativement stable,
- prolonger la phase de croissance,
- retarder la phase stationnaire et supprimer la phase de déclin.

donc de prolonger la production de toxicité et donc d'augmenter la concentration finale de toxine (doublement).

4 - Évaluation d'un nouveau procédé de culture en milieu solide

4.1 - Dénombrement des spores :

- sur la sélection thermique des spores,
- sur leur germination sur milieu adapté.

4.2 - μ_{expo} : vitesse spécifique de croissance = 0,0020 h⁻¹ ;

G = temps de génération = temps mis par une population pour doubler = 34 heures.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES - Éléments de corrigé		Session 2012
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT/Bis	Page : 2/3

PRODUCTION INDUSTRIELLE D'INSECTICIDE PAR BACILLUS THURINGIENSIS

CARACTÉRISTIQUES DE BACILLUS THURINGIENSIS (18 points)

1 - Structure et comportement environnemental de *B. thuringiensis* (12 points)

- 1.1 - 3 points
- 1.2 - (9 points)
- 1.2.1 - 4 points
 - 1.2.2 - 2 points
 - 1.2.3 - 2 points
 - 1.2.4 - 1 point

2 - Systématique bactérienne (6 points)

- 2.1 - 3 points
- 2.2 - 3 points

OPTIMISATION D'UN PROCÉDÉ DE FERMENTATION INDUSTRIEL (42 points)

3 - Évaluation de procédés de culture en milieu liquide (36 points)

- 3.1 - (17 points)
- 3.1.1 - 1 point
 - 3.1.2 - 2 points
 - 3.1.3 - 2 points
 - 3.1.4 - 2 points
 - 3.1.5 - (3 + 2 points) 5 points
 - 3.1.6 - (3 + 1,5 + 0,5 points) 5 points
- 3.2 - (19 points)
- 3.2.1 - 6 points
 - 3.2.2 - 2 points
 - 3.2.3 - 2 points
 - 3.2.4 - *Le jury appréciera la pertinence de la réponse du candidat* 5 points
 - 3.2.5 - (4 points)
 - 3.2.5.1 - 1 point
 - 3.2.5.2 - *Le jury appréciera la pertinence de la réponse du candidat* 3 points

4 - Évaluation d'un nouveau procédé de culture en milieu solide (6 points)

- 4.1 - 2 points
- 4.2 - 4 points